

**Messung der Phagozytoseaktivität
im Blut von Haustieren
mittels der ^{14}C -Glukoseoxidationsrate**

Wolfgang Altstaedten

1974

Aus dem Institut für Mikrobiologie und
Infektionskrankheiten der Tiere
der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. A. Mayr

MESSUNG DER PHAGOZYTOSEAKTIVITÄT IM BLUT VON HAUSTIEREN
MITTELS DER ^{14}C - GLUKOSEOXIDATIONSRATE

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der
Tierärztlichen Fakultät
der
Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Wolfgang Altstaedten
aus
Bergheim/Erft

München 1973



Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. E. Dahme
Referent: Prof. Dr. Dr. h.c. A. Mayr
Korreferent: Prof. Dr. P. Walter

Tag der Promotion: 22. Februar 1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Problemstellung	1
2. Schrifttum	2
2.1. Phagozytose	2
2.1.1. Begriffsbestimmung	2
2.1.2. Phagozytierende Zellen	3
2.1.2.1. Makrophagen	4
2.1.2.2. Mikrophagen	6
2.1.3. Vorgang der Phagozytose	9
2.1.3.1. Vorkommen und Verteilung von Granulozyten im Säugetierorganismus	9
2.1.3.2. Phagozytose vorbereitende und stimulierende Faktoren (PPF)	11
2.1.3.3. Chemotaxis	12
2.1.3.4. Mechanismus der Partikelaufnahme	18
2.1.3.4.1. Erkennungsphase	19
2.1.3.4.2. Adsorption	19
2.1.3.4.3. Resorption	20
2.1.3.5. Degranulation der Granulozyten (Lysis und Verdauung der Partikel)	21
2.1.3.6. Änderungen im Stoffwechselgeschehen während der Phagozytose	23
2.1.3.6.1. Atmung	23
2.1.3.6.2. Glykolyse	24
2.1.3.6.3. Direkte Oxidation von Glukose	26
2.1.3.6.4. Lipidstoffwechsel	28
2.1.3.7. Schematische Darstellung des Phagozytosekomplexes	29
2.2. Beeinflussung der Phagozytoseaktivität	32
2.2.1. Innere Faktoren	32
2.2.1.1. Hormone	32
2.2.1.2. Vegetatives Nervensystem	34

	Seite
2.2.2. Äußere Faktoren	34
2.2.2.1. Nahrung	34
2.2.2.2. Klima	35
2.2.2.3. Medikamente	35
3. Eigene Untersuchungen	38
3.1. Material	38
3.1.1. Versuchstiere	38
3.1.2. Blutgewinnung und -behandlung	39
3.1.3. Verwendete Medien	39
3.1.4. Zur Phagozytose angebotene Partikel	40
3.1.5. Seren	41
3.1.6. Verwendete Medikamente	41
3.2. Methodik	42
3.3. Ergebnisse	44
3.3.1. Messung des Glukose-1- ¹⁴ C-Stoffwechsels von phagozytierenden und ruhenden Zellen des Menschen und verschiedener Haustiere	44
3.3.2. Einfluß verschiedener Testpartikel	47
3.3.3. Einfluß opsonisierender Seren	50
3.3.4. Einfluß von Medikamenten im in vitro Test	53
3.3.5. Unterschiede bei neun verschiedenen Schweinerassen	58
3.3.5.1. Einfluß des Testtages auf die Phagozytoseaktivität	58
3.3.5.2. Einfluß von Rassenunterschieden auf die Phagozytoseaktivität bei immuni- sierten und nicht immunisierten Tieren	67
3.3.5.3. Einfluß des Alters auf die Phagozytoseaktivität	73
3.3.6. Einfluß verschiedener Krankheiten auf die Phagozytoseaktivität	75
4. Besprechung der Ergebnisse	77
5. Zusammenfassung	82
6. Literaturverzeichnis	86

1. Problemstellung

Die phagozytierenden Zellen eines Organismus sind ein wichtiger Bestandteil der spezifischen und unspezifischen Infektionsabwehr.

Für die Messung der Phagozytoserate standen bisher vorwiegend in vivo und in vitro Versuche bei kleinen Laboratoriumstieren im Vordergrund (BIOZZI 1953, BUSCHMANN & PREUSS 1968).

Bei Großtieren war man fast ausschließlich auf in vitro Versuche mit Leukozyten aus dem strömenden Blut angewiesen. Es wurde die prozentuale Aufnahme von Partikeln durch isolierte Leukozyten gemessen (LECHNER 1969). Bei der Auswertung unter dem Mikroskop traten individuelle Fehler aufgrund zu kleiner Zahlen ausgezählter Zellen und Fehler in der Beurteilung der Phagozytose durch Schichtung von Leukozyten und Partikeln auf.

Durch die Erkenntnisse auf dem Gebiet der Stoffwechselvorgänge während der Phagozytose boten sich neue Möglichkeiten zur Feststellung der Phagozytoseaktivität an.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es zu untersuchen, welche Möglichkeiten die Messung der $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung im Rahmen des Glukose-1- ^{14}C Abbaus während des Phagozytosevorganges als Maß der Phagozytoseaktivität von Leukozyten im Blut verschiedener Haustierarten und -rassen bietet.

2. Schrifttum

2.1. Phagozytose

2.1.1. Begriffsbestimmung

Im Gegensatz zum Begriff der Pinozytose, der 1931 von LEWIS geprägt wurde und den Vorgang der Flüssigkeitsaufnahme von Zellen in kleinen Bläschen, die von der Zelloberfläche ins Zellinnere wandern, umfaßt, versteht man unter Phagozytose die Aufnahme geformter Bestandteile von Zellen und Amöben (EDWARDS 1925). Die Pinozytose ist demnach ein "Trinkprozeß", während die Phagozytose im Gegensatz dazu ein "Freßprozeß" ist (KARNOVSKY 1962).

Die Gleichheit im Prinzip der Vorgänge bei der Pinozytose und der Phagozytose ist oft angedeutet worden (HOLTER 1959, KARRER 1960). HOLTER bemerkte, daß keine scharfe Abgrenzung zwischen der Phagozytose auf der einen und der molekularen Durchdringung auf der anderen Seite möglich sei.

1882 beschrieb METSCHNIKOFF die phagozytierenden weißen Blutzellen als ein Verteidigungssystem des Organismus, welches Gewebetrümmer, Fremdkörper und Mikroben aufnehmen und verdauen kann. Er unterteilte den Verteidigungsmechanismus der Phagozytose in drei Phasen:

1. Chemotaxis
2. Phagozytose per se
3. Verdauung des aufgenommenen Materials

Für METSCHNIKOFF spielte die Phagozytose die alleinige Rolle bei der angeborenen bzw. unspezifischen Immunität; er sprach der Beteiligung von Serumbestandteilen jede Wirksamkeit ab, obgleich er sie hinsichtlich der erworbenen Immunität zugab.

METSCHNIKOFF prägte für die frei beweglichen Phagozyten den Begriff der Mikrophagen und für die ortsansässigen mononukleären Phagozyten den Begriff der Makrophagen.

Das Phänomen der Phagozytose ist seit jenen Jahren ununterbrochen Thema der Forschung geblieben und gibt auch heute noch viele Rätsel auf.

Nach HUMPHREY und WHITE (1970) kann man die Aufgabe der Phagozyten wie folgt zusammenfassen:

1. Aufnahme und Verdauung aller kurzlebigen Zellen des Blutes am Ende ihrer Lebensspanne
2. Aufnahme fremder Partikel und damit die Verteidigung gegen Infektionskrankheiten

2.1.2. Phagozytierende Zellen

Die Einteilung der Phagozyten kann heute wie folgt vorgenommen werden:

Tabelle 1: Schema der phagozytierenden Zellen des Säugetierorganismus nach HUMPHREY & WHITE (1970)

Mikrophagen	Makrophagen				
polymorphkernige Leukozyten	Histiozyten des Bindegewebes in allen Organen	Monozyten des Blutes	Mikroglia des ZNS	Sinuswandzellen	Retikulumzellen
eosinophile Leukozyten				in Milz, Leber, Nebennieren, Knochenmark, Hypophysenvorderlappen	in lymphoreticulärem Gewebe, Milz, Lymphknoten, Knochenmark, Thymus

2.1.2.1. Makrophagen

Nach NELSON (1968) sind Makrophagen große mononukleäre Zellen mit einer speziellen und hoch entwickelten Fähigkeit zur Phagozytose. Außerdem ist allen Makrophagen die Anwesenheit großer Zahlen von Lysosomen, die saure Hydrolasen und Phosphatasen enthalten, gemein. Viele, jedoch nicht alle, haben als weiteres gemeinsames Merkmal einen Besatz von Mikrovilli und einen hyaloplasmatischen Schleier als Teil der Zellmembran.

Es gilt heute als erwiesen, daß der primitive Vorläufer der Makrophagenstammzelle hauptsächlich im Knochenmark lokalisiert ist (HAASE 1964, NELSON 1968, HUMPHREY & WHITE 1970). VAN FURTH (1968) bezeichnet diese Makrophagenstammzellen als Promonozyten, aus denen die Monozyten ständig neu gebildet und ins Blut abgegeben werden, wo sie durchschnittlich ca. 32 Stunden anzutreffen sind. Sie wandern schließlich ins Gewebe aus und werden zu Gewebemakrophagen.

In der nachstehenden Tabelle sind die Orte, an denen die Makrophagen im Organismus strategisch verteilt sind, zusammengestellt:

Tabelle 2: Verteilung von Makrophagen und verwandten Zellen im Säugetierorganismus
Schema nach NELSON (1968)

anatomische Lage	Lokalisation der Makrophagen
Leber	Kupffer'sche Sternzellen, die hepatischen Sinusoide auskleidende Zellen
Milz	rote Pulpa, speziell die Sinusoide auskleidende Zellen; in den Malpighischen Körperchen der weißen Pulpa
Lymphknoten	die circulären und medullären Sinus auskleidende Zellen; verstreut in der Medulla; verstreut in den Lymphfollikeln der Cortex
Thymus	verstreut, möglicherweise in den Hassall'schen Korpuskeln einiger Spezies
Knochenmark	die Sinusoide auskleidende Zellen, wahrscheinlich auch verstreut
Lunge und Pleura	Deckzellen der Alveolen; Pleuraflüssigkeit; Milch-Flecken
Peritoneum	Peritonealflüssigkeit; Milch-Flecken
ZNS	Chorioid Plexus; Mikroglia (?)
Blut	Monozyten
Gelenke	Synovia; die Synovialhöhle auskleidende Zellen
Subcutis, Eingeweide, Uterus, Ovarien, Hoden	überall im Bindegewebe
überall	in Entzündungsexsudaten

2.1.2.2. Mikrophagen

Zu den Mikrophagen werden die zur Phagozytose fähigen Leukozyten des Blutes gerechnet.

Je nach Autor werden sie unterschiedlich eingeteilt, nämlich wie folgt:

1. nach ihrem Gehalt an Granula (DOWNEY 1970) in Granulozyten und Agranulozyten

Zu den Agranulozyten werden die Lymphozyten, die keine Phagozytosefähigkeit besitzen, und die Monozyten (Makrophagen) gerechnet. Einige Autoren schrieben jedoch auch den Lymphozyten eine Phagozytosefähigkeit zu (BURGEL 1921, DOSKOCIL 1923, REBRUCK 1951).

2. nach der Gestalt ihres Kernes in Granulozyten (gelappt), Lymphozyten (kugelig) und Monozyten (nierenförmig) (BUCHNER 1970)
3. nach ihrer Herkunft aus dem hämoretikulären und dem lymphoretikulären Gewebe in myeloische und lymphoide Leukozyten (GRAU & WALTER 1967)

Die Granulozyten lassen sich je nach Färbbarkeit ihrer Granula in Neutrophile, Eosinophile und Basophile unterscheiden. Die überwiegende Mehrheit der Granulozyten sind Neutrophile, die zusammen mit den Eosinophilen und den Monozyten die Gruppe der Leukozyten bilden, die aktiv phagozytieren kann. Die Basophilen, die nur 0,1 - 0,5 Prozent der Leukozyten ausmachen, sind nach HUMPHREY und WHITE (1970) nicht phagozytierend.

In der nachfolgenden Tabelle sind die Gesamtzahlen der Leukozyten, in Tausend pro cmm Blut, und ihre prozentuale Aufgliederung beim Menschen und einigen Haustierarten dargestellt:

Tabelle 3: Übersicht über die Gesamtzahl der Leukozyten im Blut des Menschen und einiger Haustiere (nach HAASE 1964, GRAU & WALTER 1967, BLOOM & FAWCETT 1968, BUCHNER 1970)

Gattung	Gesamtzahl in Tausend pro cmm	prozentual vergleichend				
		Neutro- phile	Eosino- phile	Baso- phile	Lympho- zyten	Mono- zyten
Mensch	5-9	55-70	1-4	0,5	20-30	2-8
Pferd	9	55-60	2-4	0,5	30-40	2,5-4
Rind	7,5-8	25-35	5-10	0,5	51-65	4,5-10
Schaf	12-17	30-40	5-15	0,2	45-70	2-5
Schwein	12-15	45-72	1-3	0,1	24-50	2-6
Hund	9-12	55-75	2,5-10	0,5	20-25	2-6

Von den verschiedenen Autoren wurden jeweils die niedrigsten und höchsten angegebenen Werte eingesetzt.

Nach CRADDOCK (1960) schwankt die Größe der Granulozyten zwischen 10 und 16 μ im Durchschnitt. Sie stammen von undifferenzierten Zellen des Knochenmarks, den Myeloblasten, ab und sind nach dem Entlassen in den Blutstrom Endzellen einer Entwicklungsreihe, die keine Teilungsfähigkeit mehr haben. Die Lebensdauer der Granulozyten beträgt selten mehr als fünf Tage, bei Infektionskrankheiten oft nur wenige Stunden.

Die Jugendformen der Granulozyten haben einen stabförmigen Kern, der mit zunehmendem Alter mehr und mehr segmentiert wird, weshalb sie auch segmentkernige oder polymorphkernige Granulozyten genannt werden. Die jüngeren, reifen Granulozyten mit ein oder zwei Kernsegmenten sind die Phagozyten mit der größten Aktivität.

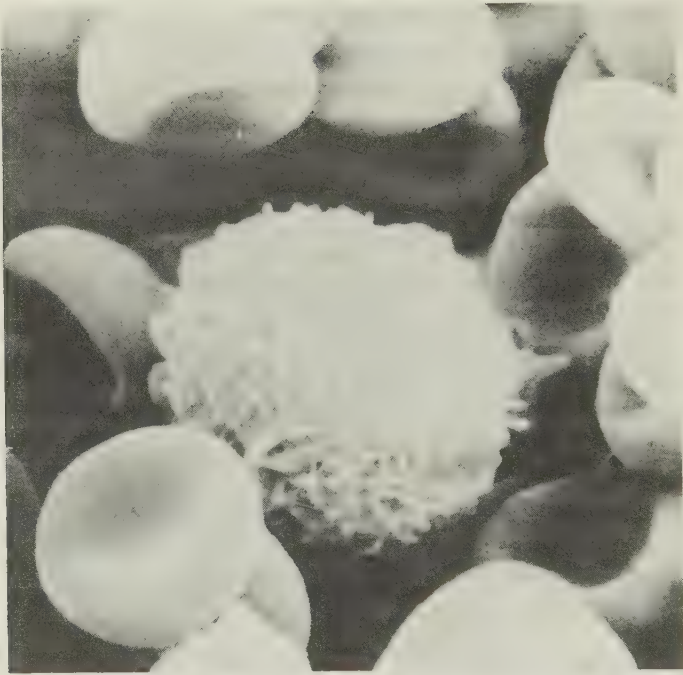


Photo: Dr. A. Boyd

Mit freundlicher Genehmigung des Gruner und Jahr Verlages
in Hamburg

Abb. 1 6000fache Vergrößerung eines Granulozyten im Blut,
umgeben von Erythrozyten

2.1.3. Vorgang der Phagozytose

2.1.3.1. Vorkommen und Verteilung von Granulozyten

im Säugetierorganismus

Der Hauptaufenthaltort der Granulozyten im Organismus ist das Blutgefäßsystem. Es ist jedoch wenig über die Funktionen der Granulozyten im strömenden Blut bekannt, da die meisten Untersuchungen *in vitro* durchgeführt wurden.

Nach DOWNEY (1970) sollen Neutrophile blindlings Bakterien und Kohlepartikel durch Oberflächenphagozytose aufnehmen, während sie durch das Gefäßsystem treiben.

WRIGHT und DODD (1955) beschrieben, daß sich die Mikrophagen in normal fließendem Blut in rollender Art und Weise an der Blutgefäßwand entlangbewegen und nicht aktiv phagozytierend sind. Bei Eintritt von Bakterien in die Blutbahn haften sie am Endothel von Kapillargefäßen, nehmen amoeboide Beweglichkeit an und können nun phagozytieren.

Nach HUMPHREY und WHITE (1970) erweitern sich am Ort einer Entzündung die Blutgefäße, so daß sich der Blutstrom verlangsamt. Die Leukozyten verlassen nun den Axialstrom und kommen durch die periphere Plasmazone des Blutes mit dem Endothel in Berührung, wo sie förmlich kleben bleiben und amoeboide Beweglichkeit annehmen (ALLISON 1955, HURLEY & SPETOR 1961). Dies geschieht immer zuerst an der Stelle einer Verletzung. Nach neueren elektronenmikroskopischen Untersuchungen (HUMPHREY & WHITE 1970) strecken die Endothelzellen Pseudopodien aus, die die Leukozyten umfassen und durch ihre eigene Zellsubstanz hindurchschleusen. MARCHESI und FLOREY (1960) beobachteten, daß die Leukozyten die zwischen den Endothelzellen liegenden Poren und die Basalmembran durchdringen. Ist an einer Stelle einmal ein Leukozyt hindurchgeschlüpft, so folgen ihm eine bestimmte Anzahl anderer stimulierter Leukozyten durch diese Öffnung, jedoch ohne jeglichen Verlust anderer Blutbestandteile.

Ist in flüssigen Medien für die Phagozytose eine Opsonisierung der zu phagozytierenden Partikel notwendig (ROWLEY 1966), so können die Phagozyten auf einer geeigneten Oberfläche, wie zum Beispiel Fibrinmembranen, auch in Abwesenheit von Opsoninen phagozytieren. Eine solche geeignete Oberfläche sind die Auskleidungen der Lungenalveolen; hier werden selbst bekapselte Pneumokokken phagozytiert, die sich in flüssigen Medien erfolgreich der Phagozytose widersetzen (WOOD 1946 und 1960).

Überhaupt spielt die Lunge als Ort der Phagozytoseaktivität der Leukozyten eine große Rolle (HUMPHREY & WHITE 1970). Bei einer künstlich erzeugten Staphylokokken Bakteriämie wurde eine ausgeprägte Leukopenie festgestellt. Fast alle zirkulierenden Mikrophagen waren für ca. 20 Minuten aus der Blutbahn verschwunden. Die meisten hatten sich in dem großen Netz der Lungenkapillaren angesiedelt und so einen zunehmend wirksameren Filter geschaffen, der die Bakterien rasch aus dem Blutstrom entfernte.

Man kann also annehmen, daß die Leukozyten im strömenden Blut wahrscheinlich nicht oder nur geringfügig phagozytosefähig sind. Sie setzen sich in den Kapillaren auf den Endothelzellen fest und nehmen die Partikel aus dem langsam vorbeiströmenden Blut auf. Bei örtlichen Entzündungsprozessen verlassen sie am Ort der Entzündung durch Diapedesis die Blutgefäße und entfalten ihre Phagozytosefähigkeit im Gewebe an geeigneten rauhen Oberflächen wie zum Beispiel Fibrinnetze.

Gelangen Bakterien in das Lymphgefäßsystem, so werden sie rasch mit dem Lymphstrom zum ersten abführenden Lymphknoten transportiert. Durch Erweiterung der Lymphknotensinus wird eine Verlangsamung des Lymphstromes hervorgerufen und dadurch viele Bakterien im Lymphknoten zurückgehalten. Polymorphkernige Leukozyten wandern nun in den Intermediärsinus ein und häufen sich in dem hilusnahen Sinus vor dem Ausgang an. So wird der an sich für Bakterien leicht durchlässige Lymphknoten durch die

Leukozytenanhäufung zu einem wirksamen Filter, in dem die eingedrungenen Mikroorganismen durch Phagozytose an der weiteren Verbreitung durch den Lymphstrom gehindert werden (WOOD 1960, HUMPHREY & WHITE 1970).

2.1.3.2. Phagozytose vorbereitende und stimulierende Faktoren (PPF)

WRIGHT und DOUGLAS stellten 1903 fest, daß gewaschene weiße Blutzellen ihre Phagozytosefähigkeit gegenüber Mikroorganismen verloren hatten. Nach Zugabe einer geringen Menge Normalserum trat die Phagozytose jedoch wieder unmittelbar auf. Sie wiesen damit nach, was METSCHNIKOFF im Falle der unspezifischen Resistenz verneint hatte, nämlich daß gewisse Serumkomponenten zur Vorbereitung der Phagozytose notwendig sind. Diese Serumbestandteile nannten WRIGHT und DOUGLAS Opsonine. Die Bestandteile erwiesen sich als thermolabil und wurden bei 60° C zerstört.

Eine weitere, jedoch thermostabile Serumkomponente, die die Eigenschaft aufwies, die Phagozytose von Bakterien zu fördern, entdeckte wenig später NEUFELD (1903). Er bezeichnete sie als Bakteriotropin, was heute nur noch als rein historischer Begriff gilt. NEUFELD führte den Opsoninindex und den Bakteriotropintest ein. Beim Opsoninindex wurde die Zahl der von Leukozyten phagozytierten Keime eines Kranken mit der eines Gesunden verglichen, um daraus die Prognose einer Krankheit zu ermitteln. Beim Bakteriotropintest, der zur Feststellung der Wirkung von Bakteriotropinen im menschlichen Serum diente, wurden abfallende Verdünnungen von inaktivierten Seren mit einer zu prüfenden Bakterienaufschwemmung und einer Leukozytenaufschwemmung zusammengebracht. Die höchste Serumverdünnung mit deutlicher Phagozytose galt als bakteriotroper Index.

TULLIS und SURGENOR entdeckten 1956 in einer chemischen und physikalischen Studie von normalem Plasma und Serum zwei verschiedene Proteine, die einen anregenden Effekt auf die Phagozytose von

menschlichen Leukozyten hatten. Sie bezeichneten diese beiden Proteine als 'Phagocytosis-Promoting-Factors' (IPF). Einer der beiden Faktoren konnte quantitativ an Bariumsulfat adsorbiert werden. Er stellte sich als eine Mischung von α -1 und β -Globulinen heraus. Plasma, das zur Absorption des Properdins mit Zynosan behandelt wurde, reduzierte die Aktivität der PPF über 35 %. Die Autoren glaubten, daß die von ihnen gefundenen Proteine mit der natürlichen Regulation der Phagozytoserate im gesunden Tier beauftragt sind.

Die Wirkung der Opsonine besteht nach HUMPHREY und WHITE (1970) darin, die Oberfläche von Mikroben zu beladen und so das elektrische Potential herabzusetzen und dadurch die Adhäsion an andere solche Partikel und an die Oberfläche der Phagozyten zu fördern. Keime mit einer hydratisierten Polysaccharidkapsel (z.B. *Diplococcus pneumonia*, *Haemophilus influenza*, *Klebsiella pneumonia* etc.) oder Polypeptidkapsel (*Bacillus anthracis*) widersetzen sich deshalb erfolgreich der Phagozytose.

Die aktivsten Opsonine sind die spezifischen Antikörper im Serum immunisierter Individuen. Auch im 'Normalserum' sollen sie in geringen Mengen vorliegen.

2.1.3.3. Chemotaxis

Der Begriff der Chemotaxis wurde 1884 von PFEFFER geprägt, um die Aktivität von chemischen Substanzen, die die Wanderung von Zellen bestimmen, zu beschreiben.

MASSART und BORDET vermuteten 1890, daß verletzte Zellen Substanzen ausscheiden, die die Granulozyten anziehen. Die Chemotaxis war in den folgenden Jahren Grund vieler Untersuchungen (GOLDSCHNEIDER & JAKOB 1894, BLOCH 1896, WOLF 1921), die alle auf der gleichen Technik beruhten:

Kapillarröhrchen wurden mit der vermutlich chemotaktischen Substanz gefüllt und dann in ein Peritonealexsudat gelegt oder direkt in die Peritonealhöhle eines Versuchstieres eingepflanzt. Nach einer gewissen Zeit wurden die in das Kapillarröhrchen eingewanderten weißen Blutzellen gezählt. WOLF tropfte 1921 die Testsubstanzen mit Agar auf Löschpapier und gab einen Tropfen Frischblut hinzu, wusch das Blut nach einer Inkubationszeit ab und zählte die verbliebenen Leukozyten. Sie stellte fest, daß bei Zugabe von Aminosäuren und Aminen zum Agar sich die Leukozyten in größerer Anzahl anhäuferten.

COMMANDON hielt erstmals 1917 die Bewegung von Leukozyten in Richtung auf ein chemotaktisches Testobjekt photographisch fest.

Das Ergebnis der meisten Arbeiten war die Vermutung, daß Produkte sterbender Zellen für Leukozyten chemotaktisch wären.

1938 versuchte MENKIN die chemotaktischen Substanzen in reiner Form darzustellen. Er betrachtete die von ihm gewonnenen Substanzen als Polypeptide und nannte sie Leukotaxine.

Studien von KELLER und SORKIN (1965 und 1967) zeigten, daß der Begriff der chemotaktischen Substanz gleichzeitig die chemotaktischen Vermittler und das Agens, welches die Bildung der chemotaktischen Vermittler induziert, einschließt. Sie versuchten, die Chemotaxis induzierenden Substanzen nach Art ihrer Arbeitsweise zu klassifizieren. Diejenigen mit einem direkten Effekt auf die Zellen wurden Cytotaxine bezeichnet und die, welche die Bildung von Cytaxinen induzieren, Cytotaxigene. Danach war der Begriff des Leukotaxins von MENKIN nicht mehr haltbar, weil (1.) eine Vielzahl von chemotaktischen Vermittlern existieren und (2.) der Begriff des Leukotaxins die Ansicht widerspiegelt, daß alle Leukozytenarten auf denselben chemotaktischen Vermittler reagieren.

Es zeigte sich nämlich, daß Cytotaxine für einen besonderen Leukozytentyp spezifisch sein können. Andererseits ist nicht bekannt, ob andere Zellen als Leukozyten auf diese Vermittler reagieren.

Cytotaxigene, die ihre chemotaktische Aktivität durch Induktion der Bildung von Cytotaxin ausüben, können aus endogenen und exogenen Quellen stammen. Viele Agenzien wirken nur in inkubiertem, frischem Serum, während sie in erhitztem Serum oder ohne Serum inaktiv sind.

Mit Antigen-Antikörperkomplexen (BOYDEN 1962), Endotoxinen, gewaschenen Bakterienzellen von *Staphylococcus albus* oder *Escherichia coli* (KELLER & SORKIN 1965 und 1967), Zellfraktionen von Mikrophagen (KELLER & SORKIN 1967) und Leberzellen (HURLEY 1964) wurde der Cytotaxigen-Cytotaxin Effekt demonstriert.

Escherichia coli und *Staphylococcus albus* entlassen in ihr Kulturmedium Chemotaxine, die speziell für polymorphkernige Leukozyten chemotaktisch sind.

Zu den endogenen Cytotaxinen werden die Serum-Cytotaxine und die von den Zellen freigesetzten Cytotaxine gerechnet. Zu den Serum-Cytotaxigenen gehören diejenigen, die von den Antigen-Antikörperkomplexen gebildet werden. Auch sie sind spezifisch für polymorphkernige Leukozyten.

DELAUNEY u.a. (1951) lieferten den Nachweis, daß haemolytisches Komplement eine Rolle bei der Erzeugung von chemotaktischen Stoffen spielt.

Aus Zellen stammende Cytotaxine wurden von KELLER und SORKIN (1968) aus gefrorenen und wieder aufgetauten Granulozyten und Makrophagen isoliert. Sie wirkten chemotaktisch auf lebende polymorphkernige Leukozyten. Auch in vitro gezüchtete Granulozyten und Alveolar-Makrophagen setzten Cytotaxine frei.

HARRIS prägte 1953 den Begriff des Chemotaktischen Feldes. Immer, wenn eine Polarisation der kreuz und quer wandernden Leukozyten auftrat (Abb.3), betraf sie jede Zelle in dem entsprechenden chemotaktischen Feld. Die Größe des chemotaktischen Feldes war von Experiment zu Experiment verschieden, jedoch innerhalb des chemotaktischen Feldes konnte kein Unterschied im Grad der Chemotaxis demonstriert werden. Hatten die Leukozyten einmal Kontakt mit einem Klumpen Staphylokokken aufgenommen, hörte die eigentliche Wanderung auf und die Phagozytose begann.

Es war charakteristisch für die Leukozyten unter den gegebenen Versuchsbedingungen, daß ihre Bewegungsaktivität abnahm, wenn die Zahl der aufgenommenen Partikel anstieg und schließlich bei einer bestimmten Menge vollkommen stagnierte, um die Partikel anscheinend zu verdauen.

Salmonella typhi, Corynebacterium diphtheriae, Mycobacterium tuberculosis (Stamm H₃₇Ra) und Stärkekörner produzieren denselben chemotaktischen Effekt. Koagulase positive Keime, z.B. Staphylococcus aureus, und Streptolysin produzierende Streptokokken zeigten keinen chemotaktischen Effekt. Die Leukozyten wurden schnell in einer bestimmten Umgebung der Bakterienklumpen abgetötet.

Bacillus anthracis und Klebsiella pneumoniae übten weder einen toxischen noch chemotaktischen Effekt aus. Tote Granulozyten, zerquetschtes und autolysiertes Gewebe und Peritonealexsudat erwiesen sich in der Versuchsreihe von HARRIS (1953) als nicht chemotaktisch.

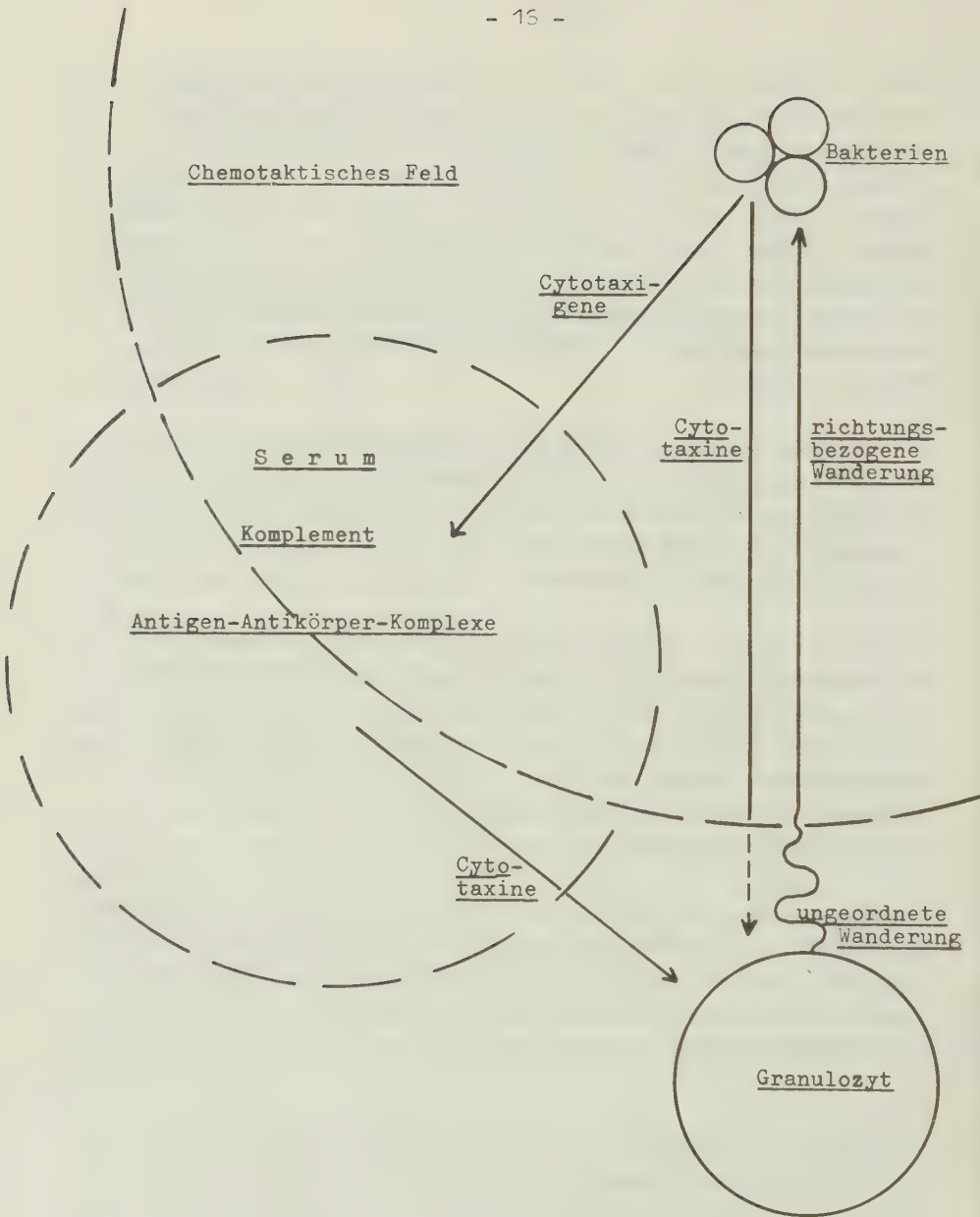


Abb.: 2 Schematische Darstellung der Chemotaxis

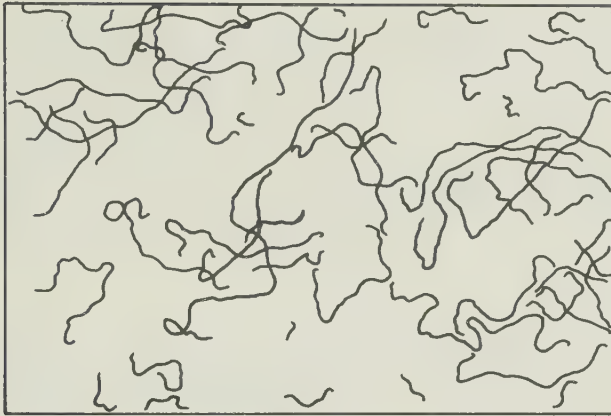


Fig. 1

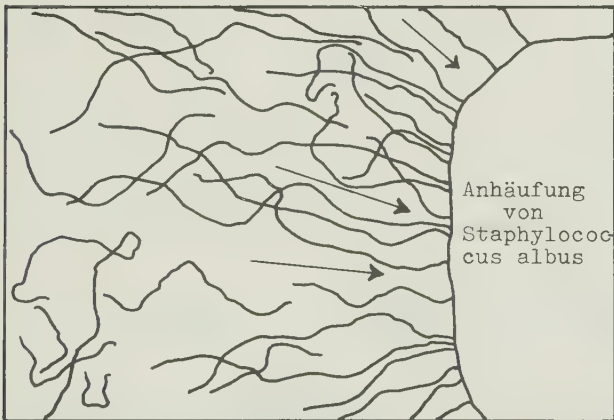


Fig. 2

Fig. 1 Wanderungsspur von Leukozyten durch nicht richtungsbezogene Bewegungen

Fig. 2 Effekt von Staphylokokken auf die Wanderungsspur von Leukozyten

Abb. 3 Chemotaktisches Feld (Zeichnung nach Photographien von HARRIS 1953)

2.1.3.4. Mechanismus der Partikelaufnahme

RHUMBLER beschrieb 1910 vier Methoden der Partikelaufnahme bei Amöben. Er bezeichnete das einfache Versinken der Partikel im Protoplasma nach Oberflächenkontakt als (1.) Import. Wenn die Partikel nach Berührung der Oberfläche vom Protoplasma umflossen wurde, nannte er diesen Vorgang (2.) Umfließung. Das (3.) Einfangen der Partikel geschah durch Ausstrecken von Pseudopodien. Die (4.) Invagination schließlich entstand durch Umschließung der Partikel und Einstülpung der Oberflächenmembran in das Ektoplasma.

Für die Säugetierleukozyten sollten nur Import und Umfließung zutreffen. RHUMBLER vermutete, daß für den Import eine quantitative Wechselbeziehung zwischen Phagozytose und den Oberflächeneigenschaften der Partikel bestehen müsse. Die Umfließung deutete er als ein wesentliches Phänomen der Phagozytose, bei der sich die Phagozytenoberfläche über die Oberfläche der Partikel ausbreitet.

BERRY u.a. untersuchten 1949 die Wirkung von 58 oberflächenaktiven Stoffen auf die Phagozytose. Sie kamen in Übereinstimmung mit PONDER (1928) zu dem Ergebnis, daß eine Partikel von einer Zelle nur dann aufgenommen wird, wenn

O.E. Partikel - O.E. Zelle-Partikel = oder $> (+1)$

O.E. Zelle

ist.

O.E. Partikel = freie Oberflächenenergie zwischen Partikel und Medium

O.E. Zelle = freie Oberflächenenergie zwischen Zelle und dem umgebenden Medium

O.E. Zelle-Partikel = freie Oberflächenenergie zwischen Berührungsflächen von Zelle und Partikel

Daher ist die Phagozytose begünstigt bei einem Abfall der Oberflächenenergie der Zelle oder der Berührungsfläche Zelle-Partikel und einem Anstieg der Oberflächenenergie der Partikel. Demnach wäre die Einverleibung einer Partikel in eine Zelle ein fast rein physikalischer Vorgang, wie ihn FENN (1921) schon als theoretische Hypothese beschrieben hatte.

Nach DOWNEY (1970) kann die Partikelaufnahme der polymorphkernigen Leukozyten wie folgt in drei Phasen aufgeteilt werden:

1. Erkennungsphase
2. Adsorption
3. Einverleibung und Verdauung

2.1.3.4.1. Erkennungsphase

In der Erkennungsphase können die Neutrophilen durch Ausstrecken von Pseudopodien und durch die Möglichkeit unendlich vieler Oberflächenkonfigurationen die physikalisch-chemische Natur benachbarter Oberflächen erforschen und ertasten (DOWNEY 1970).

2.1.3.4.2. Adsorption

In vitro Versuche mit Neutrophilen gaben einige Anhaltspunkte über den möglichen Mechanismus der Adsorption, der zur Aufnahme von Partikeln führt (WILKINS 1964, DOWNEY 1966, HIRSCH 1967). Die Adsorption und Aufnahme von inerten Polystyren-Latex Partikeln, Bakterien und Stärkekörnern durch isolierte Meerschweinchen- und Schafleukozyten zeigte, daß zweiwertige Kationen, wie Ca^{++} und Mg^{++} zur Phagozytose erforderlich sind. In Abwesenheit dieser Ionen sind die abstoßenden Kräfte an den Oberflächen der Leukozyten genügend groß, um nur noch eine schwache Wechselwirkung zu erlauben. Unter diesen Bedingungen können Bakterien trotz Oberflächenkontakt abgewaschen (desorbiert) werden. Wahrscheinlich ist das Ca-Ion für die Ladung

eines Serumproteinmoleküls verantwortlich, das zu einer negativ geladenen Zelloberfläche hingezogen wird (NORTHOVER 1961).

NUNGESTER u.a. stellten 1952 fest, daß ihre Testleukozyten elektronegativ geladen waren. Diese Beobachtung lief auf die Frage hinaus, ob die Ladung als ein wichtiger Teil des Phagozytosemechanismus anzusehen sei, da auch elektronegativ geladene Bakterien nicht abgestoßen, sondern angezogen wurden. Dieses Rätsel führte zu den unterschiedlichsten Versuchen zur Messung der elektrischen Ladung an der gesamten Leukozytenoberfläche. Man glaubte schließlich, daß die Ladungen auf einer Zelloberfläche wie ein Mosaik variieren können. NUNGESTER vermutete daraufhin, daß der fundamentale Prozeß der Phagozytose an erster Stelle nicht ein physikalischer, sondern ein biochemischer Vorgang sein könnte (NUNGESTER 1951 und 1952).

2.1.3.4.3. Resorption

Auf die Adsorption einer Partikel folgt die Einverleibung (Resorption). Nachdem sich Pseudopodien rund um die Partikel ausgestreckt haben, stülpt sich die Zellmembran ein, bis die Partikel in einer Scheide der Zellmembran vollkommen im Cytoplasma versunken ist. Durch Abknospung von der äußeren Zellmembran bildet die Scheide mit den eingeschlossenen Partikeln eine Phagozytose-Vakuole (ZUCKER-FRANKLIN & HIRSCH 1964, DOWNEY 1967). Eine oder mehrere aufgenommene Partikel stimulieren die Phagozytoseaktivität erheblich, so daß in rascher Reihenfolge weitere Partikel aufgenommen werden, bis eine 'Sättigung' eintritt.

Die Einverleibung und die Bildung einer Phagozytose-Vakuole isoliert die Partikel anfangs in einer diffusen Zone des an Organellen spärlichen Ektoplasmas. Später wandert die Vakuole in das Endoplasma (LOCKWOOD 1963). Mehrere mit Partikeln beladene Vakuolen können auch in eine gemeinsame zusammenfließen, die dann Phagosom genannt wird (DOWNEY 1970). Benachbarte Granula und Lysosome verschmelzen mit dem Phagosom und bilden die Verdaunungs-Vakuole (HIRSCH 1962) oder, nach neuerer

Nomenklatur, ein Phagolysosom (NELSON 1968). Die Partikel werden so weit wie möglich durch Enzyme (siehe nächstes Kapitel) aus Lysosomen und Granula verdaut und aufgelöst. Das angehäuften unverdaulichen Restmaterial wird in der Residual- bzw. Restkörpervakuole gespeichert. Diese kann wieder mit der äußeren Zellmembran verschmelzen und ihren Inhalt an die Umgebung abgeben. Die möglicherweise noch gebildete autophagische Vakuole nimmt verschiedene verbrauchte Organellen und andere Cytoplasma-Komponente auf und verdaut sie.

2.1.3.5. Degranulation der Granulozyten

(Lysis und Verdauung der Partikel)

Eine bemerkenswerte Abnahme der Zahl der cytoplasmatischen Granula in den polymorphkernigen Leukozyten folgt der Einverleibung verschiedener Mikroorganismen (SBARRA 1961). Die Degranulation tritt innerhalb der nächsten 30 Minuten nach der Aufnahme von Partikeln auf und steht in direktem Verhältnis zur Menge des aufgenommenen Materials. Granulozyten können vollständig nach der Aufnahme großer Zahlen von Mikroorganismen degranulieren. Die Granula enthalten antimikrobielle Agenzien, Phagozytin und verschiedene hydrolytische Enzyme. Diese Substanzen werden nach der Aufnahme fremden Materials in das Cytoplasma oder die Vakuolen freigelassen (HIRSCH 1960).

Es erscheint unwahrscheinlich, daß phagozytierte Mikroorganismen durch proteolytische Enzyme innerhalb des Cytoplasmas abgetötet werden (SALTON 1953), denn lebende Bakterien gedeihen hauptsächlich in der Gegenwart vieler Fermente dieses Typs.

Frühere Studien hatten bestätigt, daß der pH Wert rund um einen phagozytierten Mikroorganismus innerhalb der Granulozyten nahe 5 ist (ROUS 1925), ein Wert, der sauer genug ist, aus den Granula Phagozytin freizusetzen. Die vermehrte Milchsäureproduktion durch Glykolyse ist nach COHN und MORSE (1960) für den niedrigen pH Wert verantwortlich.

ROBINAUX und FREDERIC (1925) vermuten im Gegensatz dazu, daß das Platzen der Granula prinzipiell durch die Nachbarschaft einverleibter Partikel induziert wird. In einer Versuchsreihe bestätigte HIRSCH (1960) diese Vermutung.

Die aus den Lysosomen (DE DUVE 1955) freigesetzten Enzyme, wie saure Phosphatasen und Hydrolasen (β -Glukoronamidasen, Kathepsin, saure Ribonukleasen und Desoxyribonukleasen), Lipasen und Lysozyme, tragen zur Verdauung und Lysis der phagozytierten Partikel bei (DE DUVE 1969, NELSON 1968). Lysozyme (Muramidasen) sind Proteine von niedrigem Molekulargewicht und bauen enzymatisch Aminopolysaccharide ab. Einige grampositive Kokken, deren Zellwand aus dieser polymeren Kohlehydratverbindung aufgebaut ist, werden aufgelöst. Auch koagulasenegative Staphylokokken werden getötet, jedoch ohne Lysis, während koagulasenegative Staphylokokkenstämme intrazellulär überleben (ROGER 1952). Auf coliforme Bakterien haben Lysozyme keinen Einfluß (HIRSCH 1956).

Phagozytin ist ein Protein mit den charakteristischen Eigenschaften eines Globulins. Es ist nicht dialysierbar und bis 65° C hitzebeständig. Seine bakterizide Eigenschaft auf verschiedene coliforme Mikroorganismen (*E. coli*, *Shigella*, *Salmonella*, *Proteus*, *Pyocyanus* und *Klebsiella*) wurde in Kaninchenleukozyten bestätigt. Kaninchenleukozyten enthalten keine proteolytischen Enzyme, die Phagozytin zerstören könnten (HIRSCH 1956 a und b, COHN & HIRSCH 1960).

Die Aufnahme großer Mengen hitzegetöteter Bakterien (*E. coli* oder *Bacillus subtilis*) wurde von einer Auflösung der gesamten Granula und einem vierfachen Abfall des gesamten Phagozytingehaltes der Leukozyten begleitet (COHN & HIRSCH 1960). Ob solche Zellen sich erholen und die Granula regenerieren können, scheint fraglich. Aber auf Grund ihrer kurzen Lebensspanne (CRADDOCK 1960) und im Hinblick darauf, daß sie Endzellen einer Entwicklungsreihe sind, ist es unwahrscheinlich, daß sie ihre volle Aktivität wiedererlangen.

HIRSCH stellte 1960 alle bekannten antimikrobiellen Substanzen der polymorphkernigen Leukozyten wie folgt zusammen:

1. Milchsäure
2. langkettige Fettsäuren
3. Verdoperoxidase
4. lysosomale Enzyme
5. Phagozytin
6. Histone

2.1.3.6. Änderungen im Stoffwechselgeschehen während der Phagozytose

2.1.3.6.1. Atmung

FENN (1921) und PONDER (1928) beschrieben die Phagozytose als einen Prozeß, der keinen spezifischen Verbrauch an Stoffwechselenergie erfordert.

Aber bereits 1911 demonstrierte GRAFE, daß menschliche Leukozyten von an Leukämie erkrankten Patienten einen oxidativen Stoffwechsel besaßen. BALDRIDGE und GERARD beobachteten 1933 bei Hundeleukozyten, denen sie eine Bakteriensuspension (*Sarcina lutea*) anboten, einen dramatischen Anstieg des Sauerstoffverbrauchs, den sie als eine 'Extra-Atmung' bezeichneten, der 10 - 15 Minuten dauerte. Sie äußerten die Vermutung, daß die Atmung der Leukozyten während der aktiven Phagozytose mit einem Anstieg der Energieumwandlung verbunden sei, bis der Prozeß unter Kontrolle von 'physikalischen Spannungen' ist, wie FENN es sich 1921 vorgestellt hatte.

Viele Autoren bestätigten später die Beobachtungen von BALDRIDGE und GERARD (STÄHELEIN u.a. 1956, BECKER u.a. 1958, FREI u.a. 1961, COHN & MORSE 1960):

STÄHELEIN u.a. machten 1956 Beobachtungen über den Sauerstoffverbrauch und die Milchsäureproduktion während der Phagozytose. Innerhalb einer Stunde nach der Hinzufügung von hitzegetöteten Bakterien zu Meerschweinchenleukozyten stieg der Sauerstoffverbrauch einer Leukozytensuspension um fast 60 % an, der einer Monozytensuspension um fast 100 %. Diese Untersuchungen wurden von COHN und MORSE (1960) mit Kaninchenleukozyten und von SBARRA und KARNOVSKY (1959) mit Meerschweinchenleukozyten bestätigt. Die zuletzt genannten Autoren stellten durch Hinzugabe von Stärkekörnern und Polystyren-Latex Partikeln fest, daß der Atmungsanstieg auf die Anwesenheit von Serum angewiesen war. Auch bei NELSON (1956) war die Anwesenheit von Serum zur optimalen Aufnahme von Stärkekörnern und Bakterien notwendig gewesen.

STRAUSS (1962) benutzte menschliches Ganzblut, dem sie Polystyren-Latex Partikel zusetzte. Sie stellte fest, daß der Atmungsanstieg, als Antwort auf die Phagozytose, proportional zur Größe der Partikel war, von $0,25 \mu$ bis $1,2 \mu$ im Durchmesser. Mit Partikeln, die kleiner als $0,2 \mu$ im Durchmesser waren, konnte kein Anstieg der Atmung festgestellt werden.

2.1.3.6.2. Glykolyse

ADO untersuchte schon 1933 den Effekt der Phagozytose auf den Kohlehydratstoffwechsel. Der Gehalt menschlicher Leukozyten an Glykogen ist mit dem von Leber- und Muskelzellen zu vergleichen; er beträgt etwa 1 - 2 % des Naßgewichtes der Zellen (ESMAN 1961). Nach EVANS (1961) enthalten polymorphkernige Leukozyten, im Gegensatz zu mononukleären Zellen, einen großen Teil Glykogen, nämlich über 18 % des Trockengewichtes. BAZIN und ADVICE (1953) stellten fest, daß der Glykogengehalt in Leukozyten während der Phagozytose abnimmt.

Bei Kaninchenleukozyten beobachteten COHN und MORSE (1960), daß der Glykogengehalt nach Zugabe von Partikeln innerhalb

eines Zeitraumes von 30 Minuten abnahm. Während der nächsten zwei Stunden erfolgte ein Wiederaufbau von Glykogen bis zum normalen Niveau. Dabei war die Anwesenheit exogener Glukose erforderlich.

FISHER und GINSBERG (1956) bemerkten, daß wirksame und fortgesetzte Aufnahme von Bakterien durch polymorphkernige Leukozyten sehr von der Brauchbarkeit der sie umgebenden Glukose (Glukose-1-C oder Glukose-6-C) abhängig ist. Die meisten Studien über die Phagozytose sind in Anwesenheit exogener Glukose in vitro durchgeführt worden. Unter solchen Versuchsbedingungen haben verschiedene Autoren festgestellt, daß mit der Phagozytose gleichzeitig die Milchsäureproduktion ansteigt. ADO (1933), COHN und MORSE (1960) und SBARRA und KARNOVSKY (1959) fanden dies unter aeroben und anaeroben Bedingungen bestätigt. Durch den Einsatz von Glykolyse-Hemmer, wie Jodacetat und Natriumfluorid, stellten BECKER u.a. (1958) fest, daß die Phagozytose von polymorphkernigen Leukozyten fast vollständig lahmgelegt wurde. Atmungshemmer, wie Cyanid oder Antimycin A, hatten keinen Effekt auf die Partikelaufnahme (nach KARLSON (1967) ist Cyanid ein Cytochromoxidase-Hemmer, während das Antibiotikum Antimycin A die Reduktion von Cytochrom C blockiert). Diese Beobachtungen ließen den Schluß zu, daß für die Partikelaufnahme die Glykolyse der hauptsächliche Energielieferant ist.

SELVARJA und SBARRA (1966) bestätigten den Hemmungseffekt von Natriumfluorid auf die Glykolyse, stellten aber fest, daß gleichzeitig ein Anstieg der Atmung und der CO_2 Produktion aus Glukose-1-C und Ameisensäuresalz stattfand. Somit stimulierte Natriumfluorid den oxidativen Stoffwechsel in demselben Maße, wie es phagozytierte Partikel tun. SELVARJA und SBARRA versuchten, die Stoffwechselaktivitäten der phagozytierenden Zellen in zwei verschiedene Aufgabenbereiche aufzuteilen. Die Glykolyse wäre demnach hauptsächlich für die Energiebeschaffung zur Einver-

leibung von Partikeln nötig, während der oxidative Stoffwechsel wahrscheinlich durch die aufgenommenen Partikel ausgelöst wird und für die Verdauung und Zerstörung der Partikel verantwortlich ist (STRAUSS u.a. 1968).

Nach RAPOPORT (1964) bedingt die Phagozytose eine weitgehende Umstellung des Stoffwechsels der Leukozyten, wobei Sauerstoff- und Glukoseverbrauch erheblich ansteigen. Der oxidative Pentoseweg, der auch im Ruhestoffwechsel überwiegt, steigt während der Phagozytose auf das 15fache an, während die Glykolyse (Embden-Meyerhof-Weg) sich nur verdreifacht. Trotzdem ist der Phagozytosevorgang atmungsunabhängig und funktioniert - gespeist durch die Glykolyse - auch unter anaeroben Bedingungen. Dementsprechend ist auch ein erhöhter Glykogenabbau festzustellen.

Nach BECK (1958) wird das Ausmaß der Glykolyse hauptsächlich durch das Enzym Hexokinase gesteuert.

2.1.3.6.3. Direkte Oxidation von Glukose

1956 demonstrierten COXON und ROBINSON die Existenz des Glukose-6-Phosphat-Oxidationsweges der zirkulierenden Leukozyten an verschiedenen Säugetieren. Der Reaktionsablauf dieses Stoffwechselweges wurde wie folgt zusammengefaßt:

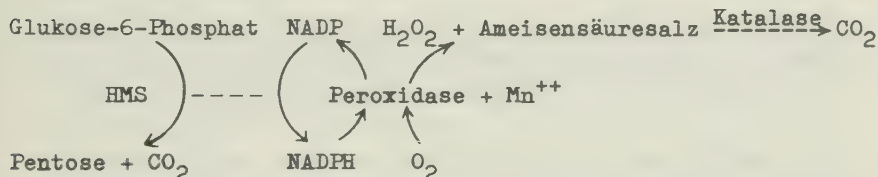
Glukose-6-Phosphat $\rightarrow$ 6-Phosphoglukonalaktone $\rightarrow$ 6-Phosphoglukonate $\rightarrow$ Ribulose-5-Phosphat $\xrightarrow{CO_2}$ Ribose-5-Phosphat und Xylose-5-Phosphat.

Die Pentosen beeinflussen sich gegenseitig, eine Heptose und eine Triose zu bilden, die dann in den glykolytischen Stoffwechsel eintreten können (CLINE 1965).

BECK (1958) vermutete, daß wahrscheinlich nur ein kleiner Bruchteil der gesamten Leukozytenglukose über den Hexose-Monophosphat-Weg (HMS) metabolisiert wird.

Nach Meinung mehrerer anderer Autoren ist die Menge der Glukose, die während der Phagozytose über den direkten oxidativen Weg metabolisiert wird am größten, während der gleichzeitige Zuwachs an Glykolyse und Sauerstoffverbrauch nur mäßig ist (KARNOVSKY 1962, IYER u.a. 1961, KARNOVSKY & SBARRA 1960).

IYER u.a. (1961) konnten nachweisen, daß die direkte Oxidation der Glukose über den HMS während der Phagozytose zu einem Anstieg von H_2O_2 im Cytoplasma führt. H_2O_2 hat eine direkte bakterizide Wirkung. Der vermutete Weg der H_2O_2 Produktion steht in einer direkten Wechselbeziehung mit dem HMS und dem O_2 Verbrauch.



Schema nach IYER, ISLAM und QUASTEL 1961

Die Glukose-Oxidationsrate scheint innerhalb der Leukozyten durch die intrazelluläre Konzentration von NADP (Nicotinamid-adenindiphosphat) geregelt zu werden (ROBERTS & CAMACHO 1961).

QUASTEL (1967) vermutete, daß für die Oxidation von NADPH eine Peroxidase verantwortlich sei (siehe Schema). Nach EVAN und KARNOVSKY (1961) geht die Oxidation nicht die klassische Route des Wasserstofftransportes über die Cytochromreduktase und Cytochrom C. Sie lieferten den Nachweis einer NADP-gebundenen Milchsäuredehydrogenase in Leukozytenextrakten, die bei niedrigem pH Wert aktiviert wird. Zusätzlich zeigte KLEBANOFF (1968), daß dieses System durch Halogenide, besonders Jodid-Ionen, noch weiter stimuliert werden kann.

H_2O_2 soll ähnlich wie Milchsäure lysosomale Veränderungen hervorrufen, die schließlich zur Freisetzung der lysosomalen Enzyme führen (ROSSI & ZATTI 1964).

STAHELEIN u.a. (1957) bemerkten, daß die Aufnahme von abgetöteten Tuberkelbakterien einen enormen Anstieg der Umwandlung von Glukose-1-C in CO_2 bewirkte. Dagegen blieb die Umwandlung von Glukose-6-C in CO_2 gering.

Auch SBARRA und KARNOVSKY (1959) stellten in ihren Versuchen fest, daß die Expiration von CO_2 aus Glukose-1-C während der Phagozytose 7fach angestiegen war, während CO_2 aus Glukose-6-C sich ungefähr nur verdoppelt hatte.

2.1.3.6.4. Lipidstoffwechsel

Für gewöhnlich werden die Zellmembranen als reich an Lipiden betrachtet, die eine ganz bestimmte Rolle beim Aufbau ihrer Ultrastruktur spielen (ENGSTRÖM & FENEAN 1958).

Elektronenmikroskopische Aufnahmen zeigten, daß die Partikelaufnahme durch Einfaltung der äußeren Membran vor sich geht, gewöhnlich durch die Vermittlung von Pseudopodien (ESSNER 1960, GOODMAN & MOORE 1956).

Die Bildung einer Vakuole, die eine Partikel aufnimmt, geschieht schließlich durch Abknospung der Zellmembran. Es scheint klar, daß die beträchtlichen Änderungen, die in der Zellmembran vor sich gehen, mit dem Anstieg des Lipidstoffwechsels in Zusammenhang stehen. Die Beobachtungen von ELSBACH (1959) schließen nicht aus, daß besondere Lipidtypen, speziell Phosphatide, daran beteiligt sind.

Der P^{32} Einbau in Phospholipide, speziell Phosphatidsäure, Phosphatidyl, Inositol und Serine nimmt während der Phagozytose beträchtlich zu (KARNOVSKY & WALLACH 1961, SBARRA & KARNOVSKY 1960). Der Einbau von P^{32} wird möglicherweise auch von Staphylokokken Leukozidin angeregt (WOODIN 1961). KARNOVSKY und WALLACH vermuteten, daß der angestiegene Umsatz

all dieser Komponenten von einer Membranlipid-Synthese begleitet wird, sobald Teile der Membran als Vakuolen ins Zellinnere gewandert sind.

2.1.3.7. Schematische Darstellung des Phagozytosekomplexes (Zusammenfassung)

Gegenüberstellung von Phagozytoseaktivität und Stoffwechselgeschehen während der Phagozytose:

Biochemische- und Stoffwechselvorgänge

Phagozytoseaktivität

- | | |
|--|---|
| 1. Chemotaxis: Cytotaxine beeinflussen Partikel direkt oder Cytotaxigene induzieren im Serum die Bildung von Cytotaxinen | Richtungsbezogene Wanderung durch Cytoplasmaaktivität |
| 2. Wirkung von Opsoninen (Antikörper), Komplement und PPF auf die Partikel | Pseudopodien identifizieren die Oberfläche der Partikel, evtl. Anziehung durch elektrostatische Kräfte |
| 3. Durch Glykolyse wird Energie zur Partikelaufnahme gewonnen | Adsorption der Partikel an die Zelloberfläche |
| 4. Stimulierung des Lipidstoffwechsels zur Synthese von Membranlipiden | Invagination der Membran mit Vakuolenbildung, Abknospung und Bildung mehrerer Vakuolen zu Phagosomen |
| 5. Inkorporierte Partikel stimulieren die direkte Oxidation von Glukose über den Hexose-Monophosphat-Stoffwechselweg (HMS), der niedrige pH Wert von 4-5, der durch Milchsäure aus der Glykolyse entstanden ist, und H_2O_2 aus dem HMS lassen die Membranen der Lysosomen platzen (Degranulation) | Den Phagosomen benachbarte Granula und Lysosome degranulieren und bilden mit den Phagosomen Phagolysosome |

Biochemische- und
Stoffwechselvorgänge

Phagozytoseaktivität

6. Durch die Degranulation werden saure Phosphatasen und Hydrolasen (β -Glukoronamidasen, Kathepsin, Ribonukleasen, Desoxyribonukleasen), Lipasen, Lysozyme und Phagozytin freigesetzt, zusätzlich helfen noch Myeloperoxidase, Milchsäure und H_2O_2 bei der Verdauung und Lysis der Partikel mit

In den Phagolysosomen beginnen sich die Partikel aufzulösen

7. In den autophagischen Vakuolen werden zusätzlich nicht mehr gebrauchte Zellorganellen wie bei 6. aufgelöst und verdaut

Autophagische Vakuolen fließen mit den Phagolysosomen zu Restkörpervakuolen zusammen

8. Stimulierung der Synthese von Membranlipiden

Restkörpervakuolen fließen mit der äußeren Membran zusammen und bilden eine Kloake, die die Restkörper an die Umgebung abgibt

Siehe zu den Punkten 1 - 8 Schema auf Seite 31

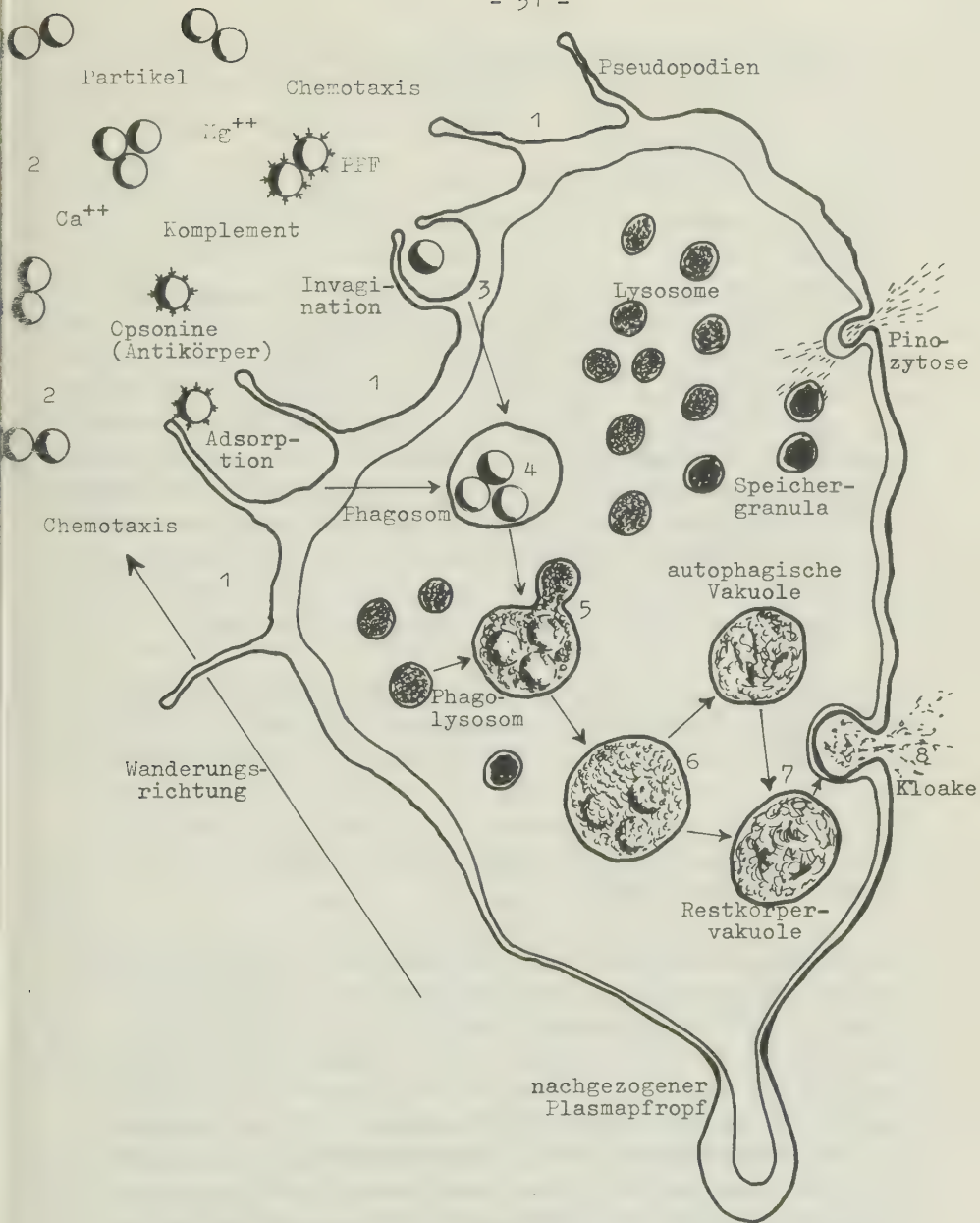


Abb. 4 Schematische Darstellung der wichtigsten Vorgänge des Phagozytose - Komplexes

Erläuterungen des Funktionsablaufes 1 - 8 siehe Text
Seite 29 - 30

2.2. Beeinflussung der Phagozytoseaktivität

2.2.1. Innere Faktoren

2.2.1.1. Hormone

SIERACKI vermutete 1955, daß die Aktivität der Nebennierenrinde verschieden Effekte auf die Phagozytoseaktivität von Neutrophilen habe, die oft vom Grad der Ausschüttung der Nebenniere abhängig seien. Versuche mit Meerschweinchen, die sieben Tage lang 11-Oxycorticosteroide verabreicht bekamen, beschrieb GORDON 1955. Er beobachtete einen Anstieg der Zellenproduktion des Knochenmarks, was neutrophile und erythroide Zellen betraf. Bei Versuchstieren, denen die Nebenniere entfernt worden war, konnte trotz dauernder Cortisonzuführung ein Abfall der Prozentzahl der Leukozyten im Blut und ein Anstieg relativ reifer Granulozyten im Knochenmark festgestellt werden.

Nach HUMPHREY und WHITE (1970) ist die Aufnahme von Mikroorganismen (z.B. *Diplococcus pneumoniae*) aus dem Blut in die phagozytierenden Zellen der RES bei Einwirkung von Cortison herabgesetzt. Sie glaubten, daß Cortison durch Verdichtung der Lysosomenmembranen innerhalb der Zellen wirken könnte und so die Freisetzung der hydrolytischen Enzyme in die Phagolysosome verhindere.

Der Einfluß von Nebennierenmarkhormonen wurde von QUALLIOTINE u.a. (1972) untersucht. Die Hinzufügung von Adrenalin, Noradrenalin und Dihydroxyphenylalanin (DOPA) zu menschlichen Neutrophilen in vitro ergab eine Stimulierung des O_2 Stoffwechsels und eine Aktivierung des HMS (Hexose- Monophosphat-Weges), bei ruhenden und phagozytierenden Zellen. Adrenalin in einer Konzentration, die Sauerstoffverbrauch und die HMS Aktivität anregte, reduzierte jedoch sehr die Fähigkeit der Leukozyten, Bakterien von Stämmen drei verschiedener Arten (*Staph. aureus*, *E. cloacae* und *P. rettgeri*) abzutöten.

Wahrscheinlich wird das Enzym Myeloperoxidase direkt gehemmt, oder das Adrenalin wirkt konkurrierend auf Substrate der H_2O_2 -Myeloperoxidase-Halogenid Reaktionen.

TIMIRAS (1953) stellte fest, daß beim Streß, während der Alarmreaktionsphase und der Erschöpfungsphase, eine Steigerung der Phagozytoseaktivität der RES Phagozyten, besonders die der Lunge, auftrat. In diesen beiden Streßsituationen wird erhöht Adrenalin aus den Nebennieren ausgeschüttet. Der adäquate Anstieg des Cortisongehaltes des zirkulierenden Blutes schien ebenfalls unentbehrlich für die Aktivität der Phagozyten des RES zu sein. HUMPHREY und WHITE sind 1970 gegensätzlicher Meinung. TIMIRAS vermutete weiter, daß die adrenocorticotropen Hormone (ACTH) der Hypophyse, welche die Nebennierenfunktionen regulieren, der erste Faktor in der Regulation der Phagozytose seien. Er stellte Versuche mit adrenaletomierten und hypophysektomierten Ratten an und wies damit seine Vermutungen nach. In der gleichen Versuchsreihe konnte er auch einen positiven Einfluß der somatotropen Hormone (STH) der Hypophyse auf die Phagozytoseaktivität feststellen.

Ob Insulin- und Thyroxinmangel, die Einfluß auf die unspezifische Resistenz haben, auch speziell auf die Phagozytose wirken, scheint noch nicht geklärt.

Eine Abnahme der Phagozytoseaktivität der Makrophagen von Leber und Milz bei männlichen Meerschweinchen nach längerer Applikation von Testosteron stellten SNELL und NICOL (1956) fest. Die normale Phagozytoseaktivität kehrte jedoch unter fortgesetzter Testosteronzuführung nach einigen Wochen zurück. Durch die Applikation von Androsteron- 3β - 17α -Diol wurde ebenfalls eine Reduzierung der Phagozytoseaktivität von Makrophagen des RES beobachtet.

In Versuchsreihen mit Mäusen untersuchten NICOL u.a. (1964) den Einfluß von Oestrogenen auf die Phagozytoseaktivität von RES Makrophagen. Sie stellten fest, daß Oestrogene einen stimulierenden Effekt auf die Phagozytoseaktivität der RES Makrophagen in männlichen und weiblichen Tieren hatten. Daraus schlossen sie, daß Oestrogen als das hauptsächliche Stimulans

des Verteidigungssystems des Körpers gegen Infektionskrankheiten in männlichen und weiblichen Individuen angesehen werden kann. Diese Feststellung findet eine Bestätigung in der Tatsache, daß der Oestrogenspiegel in weiblichen Individuen dann am höchsten ist, wenn der Schutz gegen Infektionskrankheiten am meisten gebraucht wird, wie zu Beginn und am Ende einer Schwangerschaft.

Testosteron hatte nach NICOL u.a. (1964) nur einen geringen oder gar keinen Effekt auf die RES Makrophagen in normalen männlichen Tieren, und es verhinderte auch nicht den stimulierenden Effekt von Oestrogen, wenn beide Hormone gleichzeitig appliziert wurden.

2.2.1.2. Vegetatives Nervensystem

VADJA u.a. beschrieben 1959 den Einfluß des vegetativen Nervensystems auf die Phagozytose. Ein Überwiegen des Vagotonus, was entweder durch Reizung des Parasympathicus mit Reserpin oder durch Lähmung des Sympathicus mit Largatil provoziert wurde, führte zu einer beträchtlichen Abnahme der Phagozytoseaktivität. Eine Erregung des Sympathicus mit Adrenalin führt dagegen zu einer Steigerung der Aktivität, was mit den Untersuchungen von QUALLIOTINE u.a. (1972) und TIMIRAS (1953) übereinstimmt.

2.2.2. Äußere Faktoren

2.2.2.1. Nahrung

Nach KOVALENKO und SIDEROW (1970) führt ein plötzlicher Umschwung der Haltungsbedingungen, besonders der Mangel an Verdauungsproteinen in der Futterration, bei Schweinen zu einer Verminderung der Gesamtresistenz des Organismus. MILLS und COTTINGHAM vermuteten jedoch schon 1943, daß die Phagozytoseaktivität auch von der täglichen Proteinzufuhr abhängig sei. Auch der Mangel eines einzigen Vitamins (B_1 (Thiamin), B_2 (Riboflavin), B_6 (Pyridoxin), Pantothensäure, Cholin oder Ascorbinsäure),

der genügte, das Wachstum aufzuhalten, reduzierte die Phagozytoseaktivität von Leukozyten erheblich.

Auch EPPINGER stellte 1949 fest, daß die Kupffer'schen Sternzellen der Leber und andere phagozytierende Zellen des RES während einer ernsthaften B₁ und B₂ Avitaminose viel von ihrer Phagozytosefähigkeit verlieren.

Längere parenterale Zuführung von Vitamin A und D verminderte nach MORAZZA und GIANNICO (1957) die Phagozytoseaktivität der RES Zellen von Leber und Nebenniere, während hohe Dosen Vitamin C sie steigerte, was auch MARCUS u.a. (1953) bestätigten.

GELLHORN und DUNN (1937) konnten durch künstlichen Vitamin A Mangel den Phagozytoseindex im Blut von Ratten senken und mit zusätzlichen Vitamin A Gaben wieder rückgängig machen.

Gegensätzliche Meinungen bestehen über die Auswirkungen des Hungers. Während KUNA (1951) der Meinung ist, daß nach körperlicher Arbeit oder Hunger die Phagozytoseaktivität erhöht wird, beobachteten MILLS und COTTINGHAM (1943) genau das Gegenteil.

2.2.2.2. Klima

Außentemperatur (HAAN & FORST 1939), Klima, Wetter und Jahreszeit (ANDREWS 1967) spielen eine nicht zu unterschätzende Rolle auf die Phagozytoseaktivität als Teil des Resistenzmechanismus.

Auch LECHNER stellte 1969 fest, daß die Phagozytoseaktivität im Blut von Schweinen einer jahreszeitlichen Schwankung unterworfen war. Der Höhepunkt lag bei einem Untersuchungszeitraum von März bis September in den Monaten Juni, Juli und August.

2.2.2.3. Medikamente

Schließlich seien unter noch vielen möglichen Einflüssen einige Medikamente mit ihren Einwirkungen auf die Phagozytose erwähnt.

1933 stellte ZYLBERSZAC eine signifikante Steigerung der Phagozytoserate bei Makrophagen des RES durch Einfluß von Sulfonamiden fest.

Bei Versuchen von MAGERL (1942) überlebten Kaninchen eine an sich tödliche Streptokokkeninfektion durch eine Reizinjektion mit Heparin. Diese Reizinjektionen mit Heparin übten einen unverkennbaren Einfluß auf die Phagozytoseaktivität aus. Die Zahl der bakterienhaltigen Zellen war bei den mit Heparin (Vetren) gespritzten Tieren durchschnittlich doppelt so hoch wie bei den Kontrolltieren. MAGERL schrieb Heparin eine stark phagozytosefördernde Wirkung zu. In ähnlichen Versuchen hatte MAGERL einige Jahre zuvor (1938) festgestellt, daß sich Omnadin nicht auf die Phagozytose, sondern nur auf die Produktion bereits vorhandener Antikörper auswirkte.

Daß die Wirkung von Histamin auf die Phagozytose von Rattenleukozyten, in einer Konzentration von 1 : 50 000 - 1 : 500 000, fördernd ist, beschrieben LUDANY und VADJA 1950. Die Steigerung der Phagozytose von Staphylococcus pyogenes aureus betrug durchschnittlich 34 %, von Typhusbakterien 30 %.

Antihistamine vermochten die Phagozytose von Bakterien in einer Konzentration von 1 : 1 000 im Mittel um 57 % bei Staphylokokken und 42 % bei Typhusbakterien herabzusetzen. Andererseits hatten die Antihistamine (Antistin) bereits bei einer Verdünnung von 1 : 10 000 keine Wirkung mehr auf die Aufnahme von Bakterien.

Nach diesen Autoren wirkt Histamin nicht nur stimulierend auf die Phagozytose, sondern auch auf die Bakterien, und zwar in der Art wie Opsonine.

In neuester Zeit wurde der Einfluß von Antibiotika auf die Phagozytose von Mäuse-Peritonealmakrophagen in vitro von ADAM (1972) untersucht. Es wurden Polymyxin, Dihydrostreptomycin, Carbenicillin, Ampicillin, Chloramphenicol und Tetracyclin untersucht. Als Testkeim wurde E. coli Stamm 018 benutzt. In jedem Fall war die Phagozytose ohne Antibiotikum niedriger als bei Zusatz einer unerschwelligen, das Bak-

terienwachstum nicht beeinflussenden Antibiotikummenge. Eine Ausnahme bildeten Chloramphenicol und Tetracyclin.

Es zeigte sich außerdem, daß die intrazelluläre Abtötungsrate nach der Phagozytose, bei Anwesenheit einer unterschwelligen Antibiotikummenge, in jedem Fall größer war als bei solchen Bakterien, die ohne Hemmstoffzusatz phagozytiert worden waren. Eine Ausnahme bildeten auch hier wieder Chloramphenicol und Tetracyclin. Eine Stimulierung der Phagozyten durch Antibiotika schien nicht wahrscheinlich, vielmehr dürfte die erhöhte Phagozytoserate durch Einwirkung des Antibiotikums auf die Keime zustande gekommen sein.

Versuche zur Stimulierung der unspezifischen Resistenz und der Phagozytose mit Pflanzenextrakten wurden von verschiedenen Autoren durchgeführt (BÜSING 1958, MÖSE & LUKAS 1961, STEHR & WAHLE 1968, HERLYN 1972). MÖSE u.a. konnten mit Tinktur und Frischauszug aus *Aristolochia clematis* und STEHR und WAHLE mit *Aristolochiasäure* eine Aktivierung von Makrophagen feststellen. HERLYN konnte mit einem Chloroformauszug und einem Dekokt aus *Flores Arnicae* eine Steigerung des Phagozytoseindex nachweisen. Bei den Versuchen von HERLYN hatten vor allem auch neutrale Dextrane mit einem Molekulargewicht zwischen 40 000 und 2 000 000 einen positiven Einfluß auf die Phagozytose.

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material

3.1.1. Versuchstiere

Für die Versuche standen Schweine aus neun verschiedenen Rassen in der Mastprüfanstalt Grub zur Verfügung, die aus Gründen eines geheimen Hybridzuchtprogrammes kodifiziert (A - I) werden mußten. Es handelte sich bei den 305 Tieren um Kastraten, die unter möglichst gleichen Umwelt- und Nahrungsbedingungen bis zu einem Lebendgewicht von ca. 90 kg aufgezogen, dann kastriert und 5 1/2 Wochen später geschlachtet wurden. Sie erreichten ein durchschnittliches Lebensalter von ca. 210 Tagen.

Die Blutproben wurden jeweils während des Schlachtens am Montagmorgen entnommen, wobei die Ohrmarken, die Rasse und eventuelle Abnormitäten, wie Krankheiten, in Listen eingetragen wurden.

165 Tiere wurden in einem Parallelversuch zur Antikörperbildung mit einem künstlichen Antigen, das zu gleichen Teilen aus 2,4 dinitrobenzolsulfonsaurem Natrium ($(\text{NO}_2)_2\text{C}_6\text{H}_3\text{SO}_3\text{Na}$) (Eastman Kodak), Rinderserumalbumin (Behring) und Freund'schem inkomplettem Adjuvans (Difco) hergestellt wurde, behandelt.

Für weitere Versuche wurde Blut von Schlachtschweinen und Rindern am Schlachthof München gewonnen. Außerdem wurden Blutproben von fakultätseigenen Tieren auf dem Oberwiesenfeld und auf dem Versuchsgut Oberschleißheim und von Tieren eines Bullenmastbetriebes in der Nähe von Dachau entnommen.

3.1.2. Blutgewinnung und -behandlung

Als Antikoagulans diente eine Heparinlösung, die unter sterilen Bedingungen aus Heparin-Natriumsalz (Roth, Karlsruhe) 130 000 IE/g in einer Verdünnung von 1 : 1000 mit einer NaCl-Lösung hergestellt wurde (1 ml = 130 IE).

0,5 ml Heparinlösung diente der Ungerinnbarmachung von ca. 10 ml Blut, das unter möglichst sauberen Bedingungen aufgefangen wurde. Die silikonisierten Blutentnahmeröhrchen wurden sofort mit Kappen verschlossen und in einer Kühlbox bei ca. 4° C 3 - 4 Stunden bis zum Versuchsansatz aufbewahrt.

Leukozyten wurden nach der Flotationsmethode (OTTO 1970) isoliert bzw. auf einem Nylonfaserfilter fraktioniert. 2×10^6 Zellen wurden in 0,6 ml HBSS (Hank's eingestellte Salzlösung) und 0,3 ml Serum resuspendiert. 0,4 ml viermal in NaCl-Lösung gewaschenes Blutsediment wurde in 0,4 ml HBSS und 0,4 ml Serum resuspendiert, so daß in 0,2 ml ca. 250 000 Leukozyten aufgeschwemmt waren.

3.1.3. Verwendete Medien

Eine auf pH 7,4 eingestellte Hank's Salzlösung (HBSS) diente zur Lösung der Glukose-1-¹⁴C, die eine spezifische Aktivität von 3 µCi/mmol aufwies, was bei 3 mg einer spezifischen Aktivität von 50 µCi entsprach (Radiochemical Centre Amersham). 3 mg Glukose-1-¹⁴C wurden in 560 ml HBSS aufgelöst, so daß 1 ml der Lösung eine spezifische Aktivität von 0,0893 µCi hatte.

Zusammensetzung der HBSS:

NaCl	160 g
Kaliumchlorid (KCl)	8 g
Magnesiumsulfat ($\text{MgSO}_4 + 7 \text{H}_2\text{O}$)	2 g
Magnesiumchlorid ($\text{MgCl}_2 + 6 \text{H}_2\text{O}$)	2 g
Kalziumchlorid ($\text{CaCl}_2 + 2 \text{H}_2\text{O}$)	2,2 g
Aqua dest.	ad 1 000 ml

Eine Hyamin 10X-Hydroxid-1M-Lösung in Methanol (Serva, Heidelberg) wurde benutzt, um das entstandene $^{14}\text{CO}_2$ aufzufangen.

Die Fluorlegierung Fluoralloy-TLA (Beckman Instruments), in Toluol aufgelöst, wurde als Scintillationsflüssigkeit benutzt. 32,2 g TLA Dry Mix wurden in einer Gallone (= 3,785 l) Toluol aufgelöst, so daß die schließliche Konzentration 8,0 g/l Butyl PBD und 0,5 g/l PBBO betrug.

3.1.4. Zur Phagozytose angebotene Partikel

Polystyren-Latex Partikel (Difco):

Die inerten Polystyren-Latex Partikel mit einem Durchmesser von $\varnothing = 0,8 \mu\text{m}$ waren in einer Ausgangslösung von $2 \times 10^{10}/\text{ml}$ vorhanden. Sie wurden unter sterilen Bedingungen mit physiologischer Kochsalzlösung auf eine Konzentration von $2 \times 10^9/\text{ml}$ eingestellt.

Tusche (Günther Wagner):

Zusammensetzung:	10 %	Gasruß (Partikeldurchmesser $\varnothing = 200 - 300 \text{ \AA}$)
	4,3 %	Fischleim
	1 %	Karbonsäure
		Rest Aqua dest.

Diese Ausgangslösung wurde mit 1 % Gelatine 1 : 5 verdünnt, so daß 0,2 ml etwa 0,004 ml Teilchen enthielten.

Staphylococcusepidermidis (American Type Culture Collection No. 10 875):

Die Bakterien wurden zwei Tage auf Blutagarplatten bei 37° C gezüchtet und dann in Hank's Medium aufgeschwemmt. Die Aufschwemmung wurde 10 Minuten bei 200 g zentrifugiert, das gewaschene Sediment in 1 ml HBSS aufgenommen und austitriert. Die Bakteriendichte wurde dann auf $3 \times 10^8/0,1$ ml eingestellt.

3.1.5. Seren

Es wurden zumeist tiefgefrorene, zum Teil auch frisch gewonnene Seren von Pferd, Rind, Schwein, Schaf, Ziege und Huhn benutzt. Eine Inaktivierung der Seren wurde durch ein halbstündiges Erhitzen im Wasserbad bei 56° C erreicht.

3.1.6. Verwendete Medikamente

Es wurden folgende Antibiotikazusätze von 1 µg bis 1000 µg verwendet:

6-Aminopenicillansäure (Bayer)
Penicillin-G-Kalium (Hoechst)
Penicillin-G-Natrium (Hoechst)
Streptomycin-Sulfat (Hoechst)
Kanamycin (Grünenthal)

Folgende resistenzsteigernde Medikamente in Mengen von 0,05 ml bis 0,15 ml wurden zugesetzt:

Ferro-Farmetan (Rentschler)
Yatren-Casein (Bayer)
Aristolochia Miniplex (Hydrochemie)
Pulsatilla " " " "
Echinacea " " " "
Dextran, Molekulargewicht 2 Millionen (Pharmacia, Uppsala)

3.2. Methodik

Nach KEUSCH u.a. (1971 und 1972) werden in einen 25 ml silikonisierten Spezialerlenmeyerkolben (Anfertigung Bender & Hobein, München), in dessen Boden ein Ring zur Aufnahme eines kleinen Glasgefäßes eingeschmolzen ist, 0,1 ml einer NaCl-Lösung von Polystyren-Latex Partikeln (Difco) von 0,8 μ m Durchmesser und einer Konzentration von 2×10^9 /ml gegeben. 1,0 ml einer auf pH 7,4 eingestellten Hank's Salzlösung, die jeweils 0,0893 μ Ci Glukose-1- 14 C enthält, und 0,2 ml heparinisiertes Venenblut (13 IE Heparin) werden hinzugefügt. Der Erlenmeyerkolben wird mit einer Gummikappe verschlossen und 30 Minuten bei 37° C auf einem Schüttler bebrütet. Nach 30 Minuten Bebrütung werden mit einer langen Injektionskanüle durch die Gummikappe 1,0 ml einer 2 N HCl-Lösung injiziert, wodurch jede weitere Stoffwechselaktivität gestoppt wird. Mit einer langen Injektionskanüle werden nun 0,4 ml Hyaminhydroxid in das kleine Glasgefäß am Boden des Erlenmeyerkolbens injiziert. Nach weiteren 30 Minuten Bebrütung auf dem Schüttler, während der das Hyaminhydroxid das durch die Stoffwechselaktivität der Leukozyten entstandene $^{14}\text{CO}_2$ auffängt, wird die Kappe entfernt und das kleine Glasgefäß mit dem vom Hyaminhydroxid aufgefangenen $^{14}\text{CO}_2$ mittels einer Pinzette in ein 10 ml Meßgefäß aus Polyäthylen (Hormuth, Heidelberg) überführt, das als Scintillationsflüssigkeit Fluoralloy-TLA (Beckman Instruments), gelöst in Toluol, enthält.

In einem Flüssigkeits-Scintillations-Spektrometer (Packard, Typ Tri-Carb, Modell 3375) wurde die vorhandene Aktivität in Impulsen pro Minute gemessen. Während einer Meßdauer von 10 Minuten betrug der Meßfehler ca. 2,5 %. Die Background Impulse einer Versuchsanordnung ohne Blutzellen wurden von den Versuchsergebnissen abgezogen.

Von jedem Tier wurden immer zwei Versuche mit Polystyren-Latex Partikeln (V_1 u. V_2) und zwei ohne Partikel angesetzt, so daß in den ersten beiden Versuchen (V_1 u. V_2) die gesteigerte $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung der phagozytierenden Zellen und in den beiden Kontrollversuchen die $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung der ruhenden Zellen gemessen wurde. Durch die doppelte Versuchsanordnung konnte der Meßfehler von durchschnittlich 2,5 % weiter verringert und eventuelle Fehler beim Pipettieren ausgeglichen werden. Das Verhältnis der Impulse pro Minute (IPM) von $V_1 + V_2$ zu $K_1 + K_2$ diente als Ausdruck der Phagozytoseaktivität P/R.

In Abänderung der obigen Versuchsanordnung wurde in weiteren Versuchsreihen statt Vollblut auch gewaschenes Blut und isolierte Leukozyten verwendet. Das gewaschene Blutsediment wurde in gleichen Teilen HBSS und Serum resuspendiert (0,4 ml Sediment + 0,4 ml HBSS + 0,4 ml Serum), was ein Verhältnis von ca. 250 000 Leukozyten auf 0,2 ml Suspension ergab. Ca. 2×10^6 isolierte Leukozyten wurden in HBSS resuspendiert, so daß ungefähr 400 000 Leukozyten sich in 0,2 ml Suspension befanden. Anschließend erfolgte ein Serumzusatz von $1/3$ des Suspensionvolumens.

Statt Polystyren-Latex Partikel wurde in weiteren Versuchsreihen eine Bakteriensuspension von Staphylococcus epidermidis in einer auf 3×10^8 pro 0,1 ml eingestellten Dichte verwendet, so daß bei gewaschenem Vollblut ca. 1200 Keime und bei isolierten Leukozyten ca. 750 Keime auf jeden Leukozyten kamen.

Um den Einfluß einiger Antibiotika auf die Phagozytose der inerten Latex Partikel und damit ihren Einfluß auf die direkte Oxidation von Glukose-1- ^{14}C festzustellen, wurden, je nach Antibiotikum, Mengen von 0,04 μg bis 1000 μg zugesetzt. Alle anderen Medikamente, die die unspezifische Resistenz steigern sollten, wurden in einer Menge von 0,05 ml bis 0,15 ml zugesetzt.

3.3. Ergebnisse

3.3.1. Messung des Glukose-1-¹⁴C Stoffwechsels von phagozytierenden und ruhenden Zellen des Menschen und verschiedener Haustiere

Als Test für die Wiederholbarkeit der erzielten Ergebnisse diente die mehrmalige Untersuchung von Blut derselben Spenderpersonen.

Während die P/R Werte (Zahl der absoluten Impulse pro Minute (IPM) der phagozytierenden Zellen zu den ruhenden Zellen) für den Spender W.A. nahezu gleich blieben, wichen die Werte des Spenders Dr. R. deutlich voneinander ab (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4 Wiederholte Untersuchungen auf die Phagozytoseaktivität P/R von Blut derselben Spenderpersonen

Datum	Blutspender	Geschlecht	P/R
12.3.73	Dr. R.	weiblich	3,06
14.5.73	"	"	4,21
26.2.73	W.A.	männlich	2,01
13.3.73	"	"	2,17
14.5.73	"	"	2,37

P/R = Verhältnis ¹⁴CO₂-Abgabe der phagozytierenden Zellen zu den ruhenden Zellen

Zur Feststellung des P/R Wertes verschiedener Haustiere wurde eine Versuchsreihe mit Blut vom Pferd, Rind, Schwein, Schaf, Hund und Huhn angesetzt (siehe Tabelle 5).

Die P/R Werte der verschiedenen Haustiere und des Menschen sind (mit Ausnahme des Wertes für das Schwein) für die einzelne Gattung nicht repräsentativ sondern nur informativ, da die individuelle Konstitution, die Rassenunterschiede (siehe unter 3.3.5.) etc. eine bedeutende Rolle spielen. Jedoch zeigen die absoluten Impulse pro Minute (IPM) der phagozytierenden und der ruhenden Zellen erhebliche Unterschiede in der ¹⁴CO₂-Ausscheidung und damit in der Stoffwechselaktivität zwischen den einzelnen Gattungen.

Tabelle 5 P/R Werte und die Zahl der absoluten Impulse pro Minute (IPM) als Maßstab für die $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung von phagozytierenden und ruhenden Blutzellen des Menschen und verschiedener Haustiere

	I P M				
Gattung	phagozytierende Zellen		ruhende Zellen		P/R
Mensch ♂	626,6	660,3	284,1	258,5	2,37
Mensch ♀	1048,6	963,6	263,9	213,1	4,21
Pferd ♀	243,1	243,5	148,5	156,2	1,60
Hund ♂	502,6	443,1	151,5	129,0	3,48
Schwein ♂	-	-	-	-	3,34 ^x
Schaf ♂	298,8	282,3	133,8	112,9	2,35
Rind ♀	183,4	193,7	80,6	91,4	2,19
Huhn	112,6	113,8	71,7	72,6	1,57

IPM = Impulse pro Minute

P/R = Verhältnis der phagozytierenden zu den ruhenden Zellen

x = Durchschnittswert von 273 Schweinen (Kastraten)

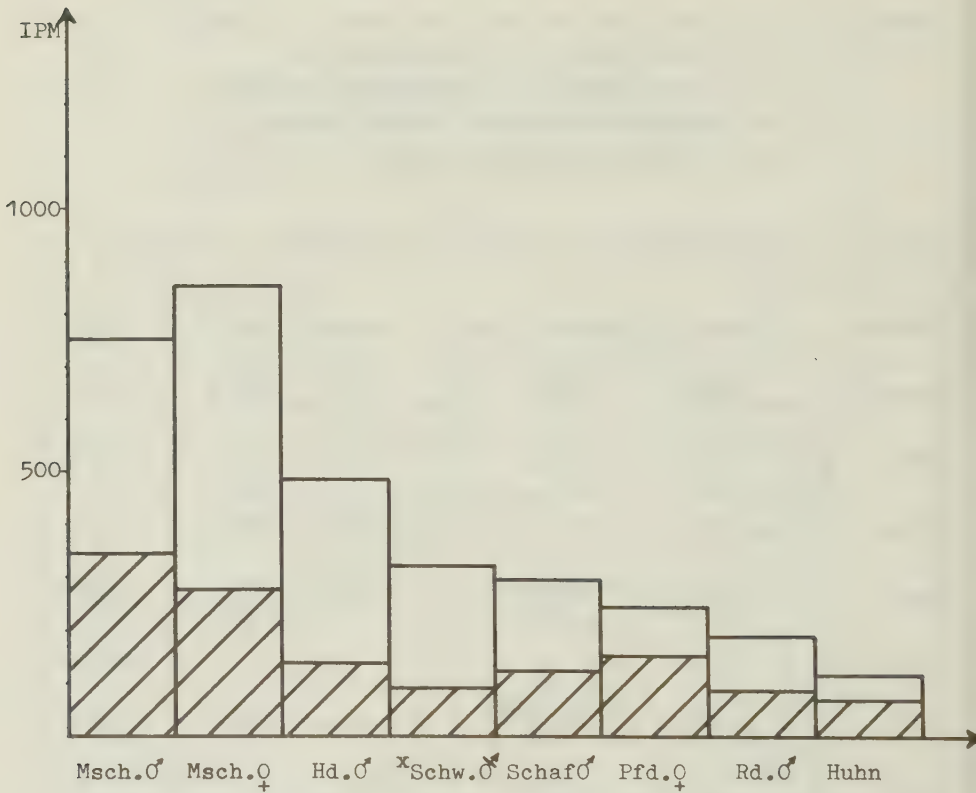


Abb. 5 Vergleich der Ausscheidungsmenge von $^{14}\text{CO}_2$, gemessen in Impulsen pro Minute (IPM), von phagozytierenden und ruhenden Blutleukozyten des Menschen und verschiedener Haustiere

gestreifte Säulen: ruhende Zellen

weiße Säulen : phagozytierende Zellen

x Mittelwert von 273 Schweinen (Kastraten)

3.3.2. Einfluß verschiedener Testpartikel

Da nach RAPOPORT (1964) die direkte Oxidation von Glukose während der Phagozytose um das 15fache ansteigen soll, müßte daher auch die $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung um einen ähnlichen Wert zunehmen. In einer Versuchsreihe mit Rinder- und Schweineblut wurden daher verschiedene Testpartikel auf ihren Einfluß auf die $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung untersucht.

Außer Polystyren-Latex Partikeln (unverdünnt $2 \times 10^{10}/\text{ml}$ und verdünnt $2 \times 10^9/\text{ml}$) wurden eine Bakteriensuspension (Staphylococcusepidermidis 3×10^8 Keime/0,1 ml) und Tuschepartikel (0,004 ml Teilchen/0,2 ml) zur Phagozytose angeboten.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 aufgezeichnet.

Es zeigte sich, daß Staphylococcusepidermidis einen wesentlich stärkeren Einfluß auf die Steigerung der $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung und damit auf die direkte Oxidation von Glukose-1- ^{14}C während der Phagozytose hat als die inerten Latex Partikel oder die Tuscheteilchen.

Die Berechnung des Anstiegs der $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung während der Phagozytose der verschiedenen Partikel in Prozent zeigt, daß die Einwirkung von Staphylococcusepidermidis einen durchschnittlichen Anstieg von 96 % mit geringer Streuung der Werte hervorruft, während die Latex Partikel ($2 \times 10^9/\text{ml}$) einen wesentlich schwächeren Anstieg der $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung von durchschnittlich nur 53 % bewirken.

Unverdünnte Latex Partikel ($2 \times 10^{10}/\text{ml}$) ergeben einen 87%igen Anstieg der $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung, während Tuscheteilchen im Blut desselben Tieres den geringsten Anstieg von nur 19 % bewirken.

Tabelle 6 P/R Wert und $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung (in IPM) während der Phagozytose von verschiedenen Testpartikeln

Gattung	I P M						P ₁ /R	P ₂ /R	% ₁	% ₂
	Strep.epid.	Latex verdünnt	Ruhende Zellen							
	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄	K ₁	K ₂				
Rd 1	2481,3	2704,9	313,8	258,1	95,7	92,3	27,59	3,04	96 %	67 %
Rd 2	2569,9	2569,0	872,8	399,2	76,8	269,8	14,90	3,65	93 %	73 %
Kalb	11653,8	12206,4	523,2	493,5	347,3	480,3	28,53	1,23	97 %	17 %
Schw 1	8707,8	12873,9	192,9	237,5	147,3	114,2	82,53	1,65	99 %	39 %
Schw 2	6427,7	6736,7	969,6	1024,5	313,4	307,0	21,22	3,21	95 %	69 %
Tusche			Latex unverdünnt			Ruhende Zellen		P ₃ /R	% ₃	% ₄
382,9			385,4			313,4		1,24	19 %	87 %
Schw 2			1850,4			3049,5		7,90		

I P M - Impulse pro Minute
V₁ bis V₄ - Versuche mit verschiedenen Testpartikeln
K₁ u. K₂ - ruhende Zellen
P/R - Verhältnis von phagozytierenden zu ruhenden Zellen
P₁/R - Staphylococcus epidermidis phagozytierende Zellen / ruhende Zellen
P₂/R - Polystyren-Latex phagozytierende Zellen / ruhende Zellen
P₃/R - Tusche phagozytierende Zellen / ruhende Zellen
P₄/R - unverdünnte Polystyren-Latex phagozytierende Zellen / ruhende Zellen
%₁ bis %₄ - der jeweilige prozentuale Anstieg der $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung durch die verschiedenen Testpartikel

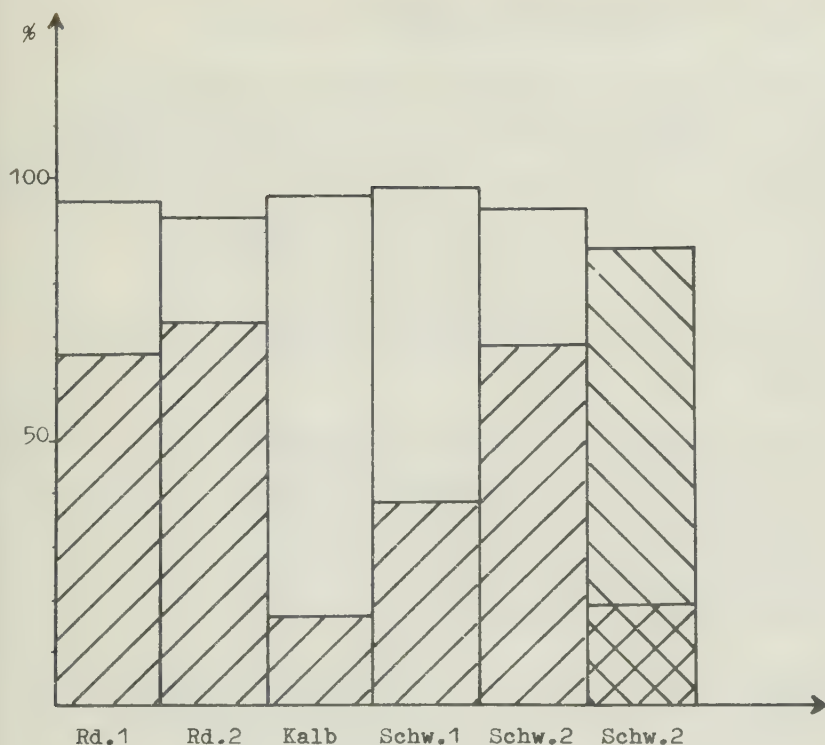


Abb. 6 Anstieg der $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung, gemessen in IPM und berechnet in Prozent, während der Phagozytose von *Staphylococcus epidermidis*, Polystyren-Latex Partikeln und Tusche

gestreifte Säulen: Polystyren-Latex Partikel ($2 \times 10^9/\text{ml}$)
 entgegengesetzte Streifung bei
 Schw.2 unverdünn ($2 \times 10^{10}/\text{ml}$)

weiße Säulen : *Staphylococcus epidermidis*

karierte Säule : Tusche

3.3.3. Einfluß opsonisierender Seren

Bei allen bisherigen Versuchen, in denen gewaschenes Blut verwendet wurde, war ein Abfall des F/R Wertes zu verzeichnen. Deshalb wurde in der folgenden Versuchsreihe gewaschenem Vollblut mit verschiedenem Serumzusatz *Staphylococcus epidermidis* als Testkeim zur Phagozytose angeboten. Die Keime waren auf eine Dichte von $3 \times 10^8/\text{ml}$ eingestellt worden.

Die Ergebnisse mit den verschiedenen Serumzusätzen, aktiv und inaktiv, zeigt Tabelle 7.

Durch Zusatz von autologem Serum zu gewaschenem Blut konnte immer ein Anstieg des P/R Wertes verzeichnet werden. Auch homologes Serum regte die Phagozytoseaktivität an, während Zusätze von heterologen Seren meist einen Abfall der Phagozytoseaktivität im Verhältnis zu ungewaschenem Vollblut bewirkten.

Isolierte Leukozyten, die nach dem Flotationsverfahren von OTTO (1970) isoliert oder auf einem Nylonfaserfilter fraktioniert wurden, zeigten entweder fast gar keine oder nur eine geringe Phagozytoseaktivität gegenüber Polystyren-Latex Partikeln. Durch Zusatz von autologem, aktivem Serum erhöhte sich der P/R Wert durchschnittlich um das 3fache (siehe Tabelle 8).

Tabelle 7 Einfluß verschiedener Serumzusätze auf den P/R Wert von gewaschenem Vollblut

Blutspender	Serumzusatz	Testkeim	P/R
Schwein 1	keiner, Vollblut ungewaschen	Staph.epid.	21,22
"	keiner, Vollblut 4 x gewaschen	" "	7,75
"	autologes, aktives Serum	" "	22,31
"	homologes, aktives Serum	" "	24,64
"	autologes, inakt. Serum	" "	20,06
"	homologes, inakt. Serum	" "	19,92
"	aktives Rinderserum	" "	12,92
"	inaktives Rinderserum	" "	10,92
Schwein 2	Vollblut 4 x gewaschen + autologes akt.Serum	" "	26,23
"	autologes, inakt. Serum	" "	26,76
"	homologes, akt. Serum	" "	25,78
"	homologes, inakt. Serum	" "	24,16
"	aktives Ziegenserum	" "	21,74
"	inakt. Ziegenserum	" "	19,84
"	aktives Pferdeserum	" "	20,01
"	inaktives Pferdeserum	" "	16,70
Rind 1	keiner, Vollblut ungewaschen	" "	27,59
"	keiner, Vollblut 4 x gewaschen	" "	16,08
"	homologes, inakt. Serum	" "	12,84
"	aktives Pferdeserum	" "	12,38
"	aktives Schweineserum	" "	12,69
Rind 2	keiner, Vollblut ungewaschen	" "	14,90
"	keiner, Vollblut 4 x gewaschen	" "	11,21
"	homologes, aktives Serum	" "	12,99
"	aktives Pferdeserum	" "	11,07
"	aktives Schweineserum	" "	14,56

Tabelle 8 Einfluß von Serumzusatz auf IPM und P/R Werte von isolierten Leukozyten bei der Phagozytose von Polystyren-Latex Partikeln

Blutspender	Isolierungs- methode	Serumzusatz	I P M			P/R
			V ₁	V ₂	K ₁	K ₂
Schwein 1	Flotations- verfahren	keiner	145,5	198,6	94,6	105,7
"	" "	autol.akt.Serum	278,6	265,7	79,1	-
Schwein 2	" "	keiner	167,5	176,4	81,0	-
"	" "	autol.akt.Serum	377,6	352,4	51,6	68,5
Rind	" "	keiner	39,5	52,0	39,0	29,7
"	" "	autol.akt.Serum	468,0	484,6	139,9	125,6
Schwein 3	Nylonfaser- filter	keiner	272,7	343,2	215,4	244,7
"	" "	autol.akt.Serum	332,2	401,1	62,0	66,4
"	" "	autol.inakt.Serum	1035,8	956,5	295,4	-
"	" "	inakt.Serum v. Pferd	42,7	53,8	53,8	44,1
"	" "	akt.Serum v. Pferd	66,8	57,5	53,8	59,1
"	" "	inakt.Serum v. Rind	94,7	78,7	54,4	50,8

I P M = Impulse pro Minute
 V₁ u. V₂ = Polystyren-Latex phagozytierende Zellen
 K₁ u. K₂ = ruhende Zellen
 P/R = Verhältnis der phagozytierenden Zellen zu den ruhenden Zellen

3.3.4. Einfluß von Medikamenten im in vitro Test

Da die bakterizide oder bakteriostatische Wirkung von Antibiotika die Phagozytose eines Testkeimes durch Leukozyten erleichtert und damit die Phagozytoseaktivität indirekt steigert (ADAM 1972), wurden statt eines Testkeimes Polystyren-Latex Partikel in den folgenden Versuchen zur Phagozytose angeboten, um eventuelle Einflüsse verschiedener Antibiotika auf den direkten Glukosestoffwechsel und damit auf die $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung festzustellen. Die Versuchsanordnung wurde durch Versuch 3 und 4 ergänzt, wo zusätzlich zu den Latex Partikeln noch Antibiotika in unterschiedlicher Menge zugesetzt wurden.

P_1/R ist somit das Maß für die Phagozytoseaktivität ohne Zusatz und P_2/R mit Antibiotikazusatz.

Schema der Versuchsanordnung von Tabelle 9:

I P M

Blut-	V_1	V_2	V_3	V_4	K_1	K_2	P_1/R	P_2/R	%
sponder									

IPM = Impulse pro Minute

V_1 und V_2 = Versuche mit Latex Partikel phagozytierenden Zellen

V_3 und V_4 = Versuche mit Latex Partikel phagozytierenden Zellen und Antibiotikazusatz

K_1 und K_2 = Kontrollversuche mit ruhenden Zellen

P_1/R = Verhältnis von $V_1 + V_2$ zu $K_1 + K_2$

P_2/R = Verhältnis von $V_3 + V_4$ zu $K_1 + K_2$

% = prozentualer Abfall oder Anstieg der Phagozytoseaktivität P/R nach Antibiotikazusatz

Die Ergebnisse sind in Tabelle 9 zusammengefaßt.

Es konnte bei den verschiedenen Penicillinabkömmlingen eine Steigerung des P/R Wertes bis zu 69 % bei Zusätzen von 5 μg und 10 μg festgestellt werden. Bei Streptomycin und Kanamycin liegen die P/R Werte teilweise unter 1, was einer Hemmung des Glukosestoffwechsels und damit der $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung gleichkommt.

Tabelle 9 Einfluß von Antibiotika auf den P/R Wert

P_1/R ist das Verhältnis der phagozytierenden
zu den ruhenden Zellen ohne,

P_2/R dasselbe Verhältnis mit Antibiotikazusatz.

% bedeutet den Anstieg bzw. den Abfall der
Phagozytoseaktivität P_2/R im Verhältnis zu P_1/R ,
ausgedrückt in Prozent.

Blut-spender	Antibiotikazusatz	Antibiotika-menge	Test-partikel	P_1/R	P_2/R	%
Schw.I	keiner	-	Latex	1,20	-	-
"	6-Aminopenicillan-säure (Bayer)	1 ug	"	-	1,47	+18
"	" "	5 ug	"	-	2,99	+60
"	" "	10 ug	"	-	3,93	+69
"	" "	50 ug	"	-	2,30	+48
"	" "	100 ug	"	-	0,85 ^x	-
"	" "	1000 ug	"	-	0,81 ^x	-
Schw.II	keiner	-	"	1,50	-	-
"	Penicillin-G-Kalium (Hoechst)	1 ug	"	-	1,52	+ 1
"	" "	5 ug	"	-	2,25	+33
"	" "	10 ug	"	-	1,73	+13
"	" "	50 ug	"	-	1,31	-13
"	" "	100 ug	"	-	1,70	+12
"	" "	1000 ug	"	-	1,48	- 1
Schw.III	keiner	-	"	1,08	-	-
"	Penicillin-G-Natrium (Hoechst)	1 ug	"	-	0,89 ^x	-
"	" "	5 ug	"	-	0,85 ^x	-
"	" "	10 ug	"	-	1,56	+31
"	" "	50 ug	"	-	1,07	- 1
"	" "	100 ug	"	-	0,88 ^x	-
"	" "	1000 ug	"	-	0,83 ^x	-

Fortsetzung von Tabelle 9

Blut-spender	Antibiotikazusatz	Antibiotika-menge	Test-partikel	P ₁ /R	P ₂ /R	%
Schw.III	Streptomycin-Sulfat	1 ug	Latex	-	0,89 ^x	-
"	" "	5 ug	"	-	0,96 ^x	-
"	" "	10 ug	"	-	0,98 ^x	-
"	" "	50 ug	"	-	0,93 ^x	-
"	" "	100 ug	"	-	1,18	+8
"	" "	1000 ug	"	-	0,95 ^x	-
Schw.IV	keiner	-	"	1,08	-	-
"	Kanamycin (Grünenthal)	0,04 ug	"	-	0,96 ^x	-
"	" "	0,4 ug	"	-	1,07	-1
"	" "	4,0 ug	"	-	0,97 ^x	-
"	" "	40,0 ug	"	-	1,07	-1
"	" "	400 ug	"	-	1,08	-
"	" "	4 mg	"	-	0,74 ^x	-

^x bei allen Werten unter 1 ist die ¹⁴CO₂-Ausscheidung der Zellen, die phagozytieren sollten, unter den Wert der ruhenden Zellen gesunken, was einer Hemmung der direkten Glukose-1-¹⁴C Oxidation durch die jeweiligen Zusätze entspricht.

Weder Ferro-Farmetan (Rentschler), Yatren-Casein (Bayer), Aristolochia, Echinacea, Pulsatilla (Hydrochemie) noch Dextran-Molekulargewicht 2 Millionen (Pharmacia, Uppsala) zeigten bei der Phagozytose von Polystyren-Latex Partikeln durch Leukozyten in vitro in den verwendeten Dosierungen eine Steigerung des P/R Wertes. Es tritt im Gegenteil in allen Fällen eine Hemmung auf, da die P/R Werte unter 1 sinken, was bedeutet, daß die ruhenden Zellen eine höhere $^{14}\text{CO}_2$ Ausscheidung haben als diejenigen, die Latex Partikel und die oben erwähnten Zusätze erhalten haben.

Auch bei einem Versuch mit *Staphylococcus epidermidis* als Testkeim, der vergleichsweise durchgeführt wurde, tritt eine Hemmung auf (siehe Tabelle 10).

Tabelle 10 Einfluß von resistenzsteigernden Medikamenten
auf die Phagozytoseaktivität P/R

P₁/R ist das Verhältnis der phagozytierenden
Zellen zu den ruhenden Zellen ohne Zusatz
und P₂/R mit Zusatz des Medikamentes.

Blutspender	Zusatz	Menge	Test- partikel	P ₁ /R	P ₂ /R
Schw. I	keiner	-	Latex	1,17	-
"	Aristolochia	0,15 ml	"	-	0,90
"	" "	0,1 ml	"	-	0,83
"	" "	0,05 ml	"	-	0,88
"	Echinacea	0,15 ml	"	-	0,83
"	" "	0,1 ml	"	-	0,81
"	" "	0,05 ml	"	-	0,86
"	Pulsatilla	0,15 ml	"	-	0,76
"	" "	0,1 ml	"	-	0,79
"	" "	0,05 ml	"	-	0,96
"	Dextran2Mill.	500 ug	"	-	0,95
"	" "	5 ug	"	-	1,02
"	" "	0,005 ug	"	-	1,04
Schw.II	keiner	-	Staph. epid.	26,23	-
"	Aristolochia	0,1 ml	"	-	24,77
"	Echinacea	0,1 ml	"	-	24,85
"	Pulsatilla	0,1 ml	"	-	23,21
Schw.III	keiner	-	Latex	1,50	-
"	Ferro- Farmetan	0,15 ml	"	-	0,46
"	" "	0,1 ml	"	-	0,64
"	" "	0,05 ml	"	-	0,80
"	Yatren- Casein	0,15 ml	"	-	0,45
"	"	0,1 ml	"	-	0,44
"	"	0,05 ml	"	-	0,44

3.3.5. Unterschiede bei neun verschiedenen Schweinerassen

3.3.5.1. Einfluß des Testtages auf die Phagozytoseaktivität

Der Auswertung liegen die in den Versuchsprotokollen für jedes einzelne Tier festgehaltenen IPM Werte (Impulse pro Minute) des ausgeschiedenen $^{14}\text{CO}_2$ und die daraus errechneten P/R Werte zugrunde.

Um den Einfluß des Testtages auf das Gesamtmaterial zu ermitteln, wurden die Mittelwerte und die Standardabweichungen aller Tiere an den einzelnen Testtagen errechnet.

Die in einem einwöchigen Abstand, im Zeitraum vom 19.2. bis 14.5.1973, vorgenommenen Untersuchungen zeigen starke Schwankungen des P/R Mittelwertes der untersuchten Tiere an den einzelnen Testtagen. Ein deutlicher Höhepunkt ist von Mitte März bis Mitte April erkennbar. Das Ergebnis einer einfachen Varianzanalyse zeigt mit $F = 22,24$ einen signifikanten ($p < 1\%$) Einfluß des Testtages auf das gesamte Tiermaterial (siehe Tabelle 11 und Abb. 7).

Da der Anteil der einzelnen Rassen an der Tiergruppe, die jeweils am Testtag geschlachtet wurde, stark variierte und mitunter von den neun verschiedenen Rassen nur fünf vertreten waren, ergaben sich für die Auswertung von Rassenunterschieden der P/R Werte an den einzelnen Testtagen über den gesamten Untersuchungszeitraum hinweg gewisse Schwierigkeiten. Jedoch geht aus Tabelle 12 und den Diagrammen (Abb. 8 - 16) hervor, daß die einzelnen Rassen die Schwankungen des P/R Mittelwertes des Gesamtmaterials an den einzelnen Testtagen, an denen sie vertreten sind, mit unterschiedlicher Abweichung mitmachen.

Tabelle 11 Vergleich der Mittelwerte der Phagozytose-
aktivität P/R des Gesamtmaterials an den
einzelnen Testtagen

Testtag	P/R Mittelwert	Standard- abweichung	n = Anzahl der Testtiere
19.2.	3,31	$\pm 1,68$	24
26.2.	3,11	$\pm 2,17$	23
5.3.	1,94	$\pm 0,75$	13
12.3.	2,00	$\pm 0,75$	10
19.3.	3,17	$\pm 2,02$	19
26.3.	9,92	$\pm 5,07$	19
2.4.	3,76	$\pm 2,08$	38
9.4.	4,29	$\pm 2,07$	24
16.4.	2,58	$\pm 1,18$	29
24.4.	3,74	$\pm 1,70$	19
30.4.	1,61	$\pm 0,69$	28
7.5.	1,42	$\pm 0,39$	18
14.5.	1,36	$\pm 0,56$	13
	F = 22,24		
	p < 1 %		

Abb. 7 Einfluß des Testtages auf die Phagozytoseaktivität P/R
P/R Mittelwerte der Testtiere an den einzelnen Testtagen

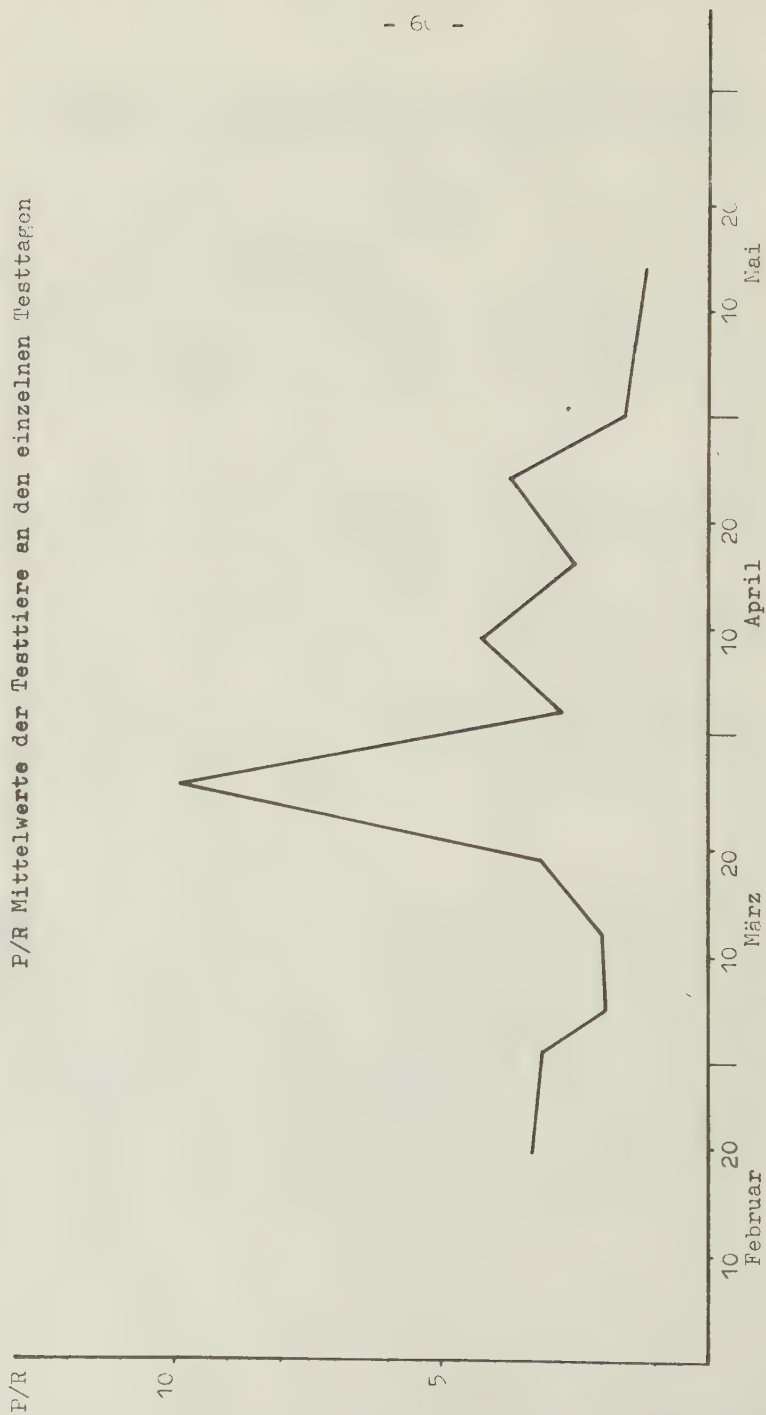


Tabelle 12 P/R Mittelwerte der einzelnen Rassen x)
an den einzelnen Testtagen

A	B	C	D	E	F	G	H	I	Rasse
3,07 n=17				5,25 n=2		3,36 n=5			Testtag 19.2.73
1,73 n=10			0,97 n=1	3,99 n=4		4,65 n=8			26.2.73
1,96 n=12			1,76 n=1	2,12 n=3		1,33 n=1			5.3.73
1,95 n=4			1,51 n=1	1,76 n=3		3,23 n=2			12.3.73
2,45 n=2			2,92 n=5	3,66 n=10	1,88 n=1	2,21 n=1			19.3.73
6,81 n=2			6,37 n=5	14,15 n=5	10,48 n=6	9,39 n=1			26.3.73
3,00 n=6	6,87 n=1	2,52 n=4	2,21 n=6	4,13 n=8	4,35 n=5			4,99 n=8	2.4.73
4,64 n=11			3,36 n=5	3,81 n=3	3,20 n=3			7,15 n=2	9.4.73
3,53 n=3	2,38 n=4	2,01 n=6	2,36 n=2	2,71 n=14					16.4.73
3,43 n=3	5,39 n=3	3,12 n=4	2,10 n=8	4,14 n=3	3,24 n=1			3,86 n=2	24.4.73
1,18 n=6	1,31 n=3	1,66 n=4	1,90 n=8	1,72 n=3	1,18 n=1	2,15 n=2	1,66 n=1		30.4.73
1,82 n=1		1,07 n=3	1,38 n=1	1,41 n=3	1,49 n=8	1,56 n=1	1,55 n=1		7.5.73
1,16 n=2			1,21 n=4		1,73 n=4		1,32 n=2	0,94 n=1	14.5.73

Auf Grund eines geheimen Hybridzuchtprogramms mußten die Rassen mit A - I kodifiziert werden.

Abb. 8 - 16 Variation der F/R Werte in Abhängigkeit vom Untersuchungstag, aufgeschlüsselt nach Rassen

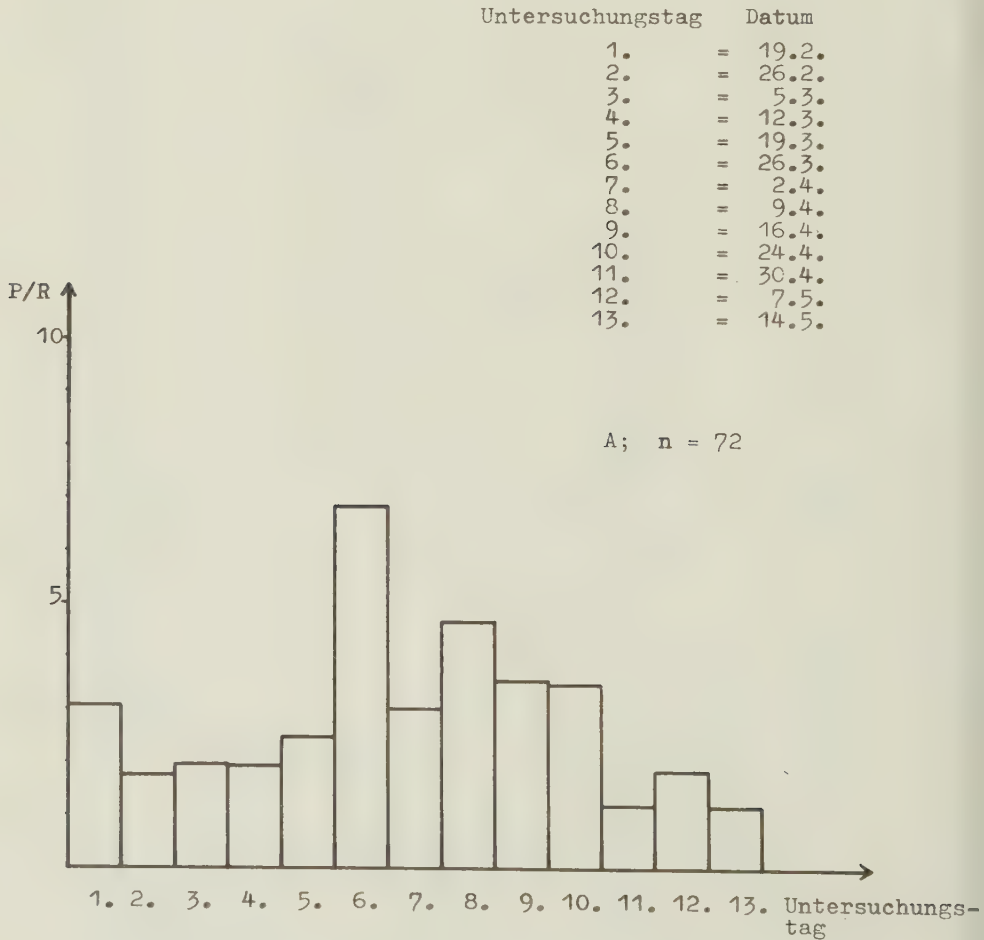


Abb. 8 Rasse A

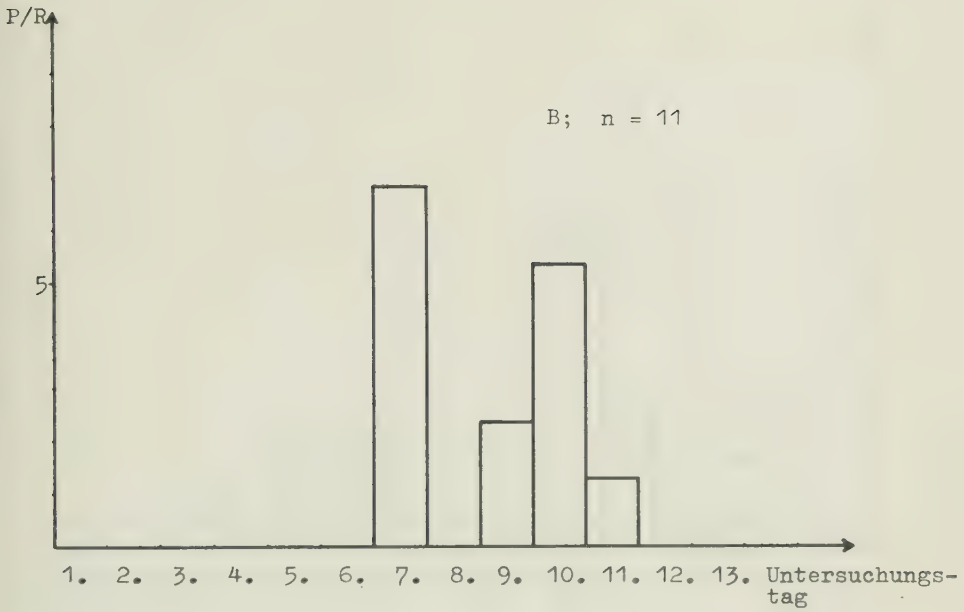


Abb. 9 Rasse B

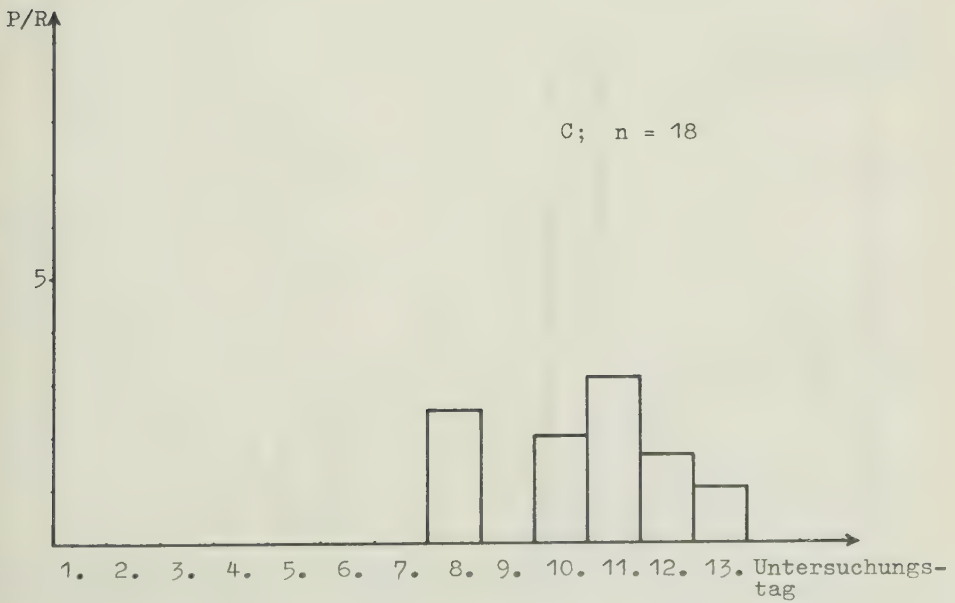


Abb. 10 Rasse C

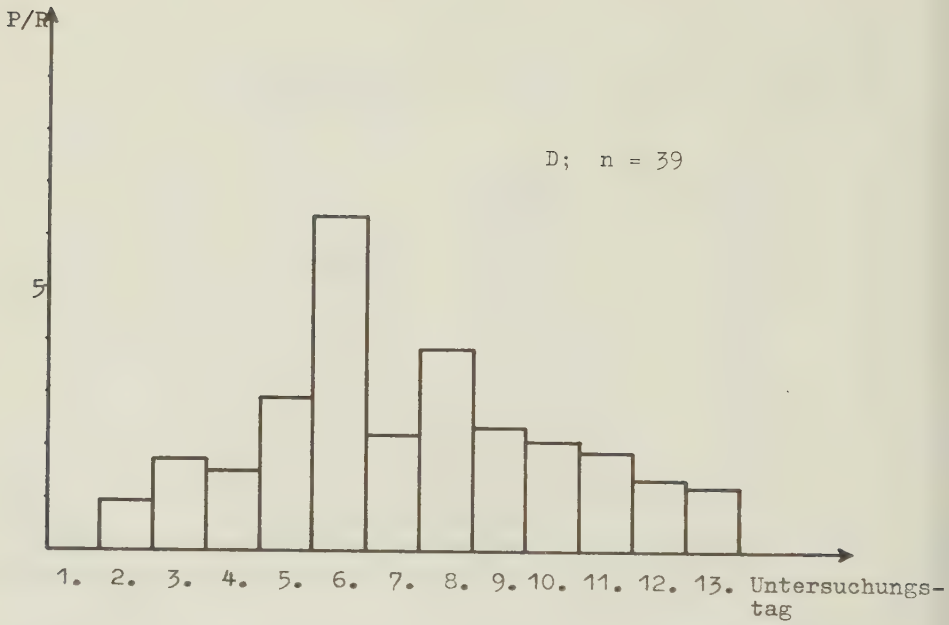


Abb. 11 Rasse D

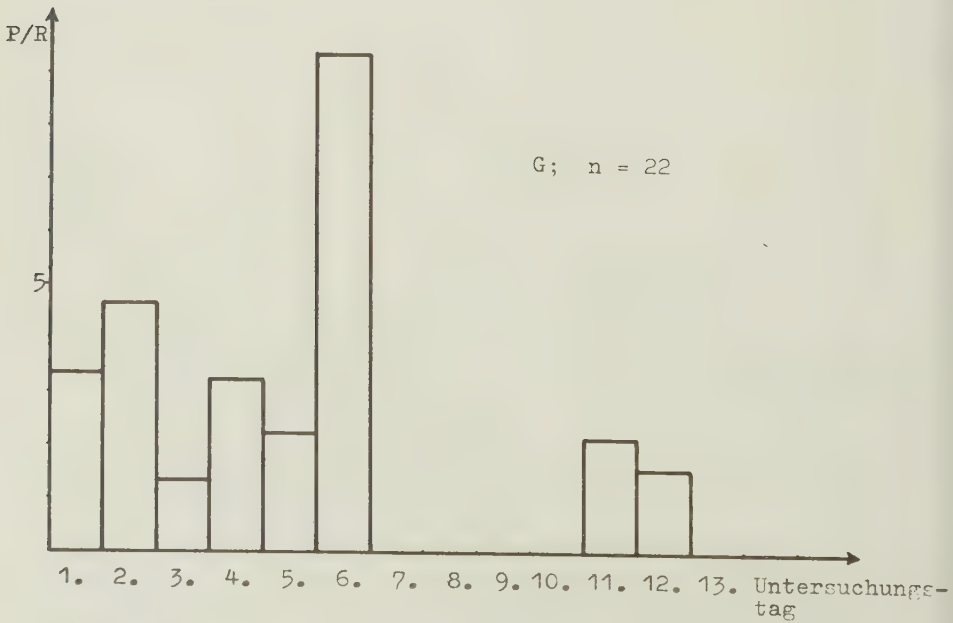


Abb. 12 Rasse G

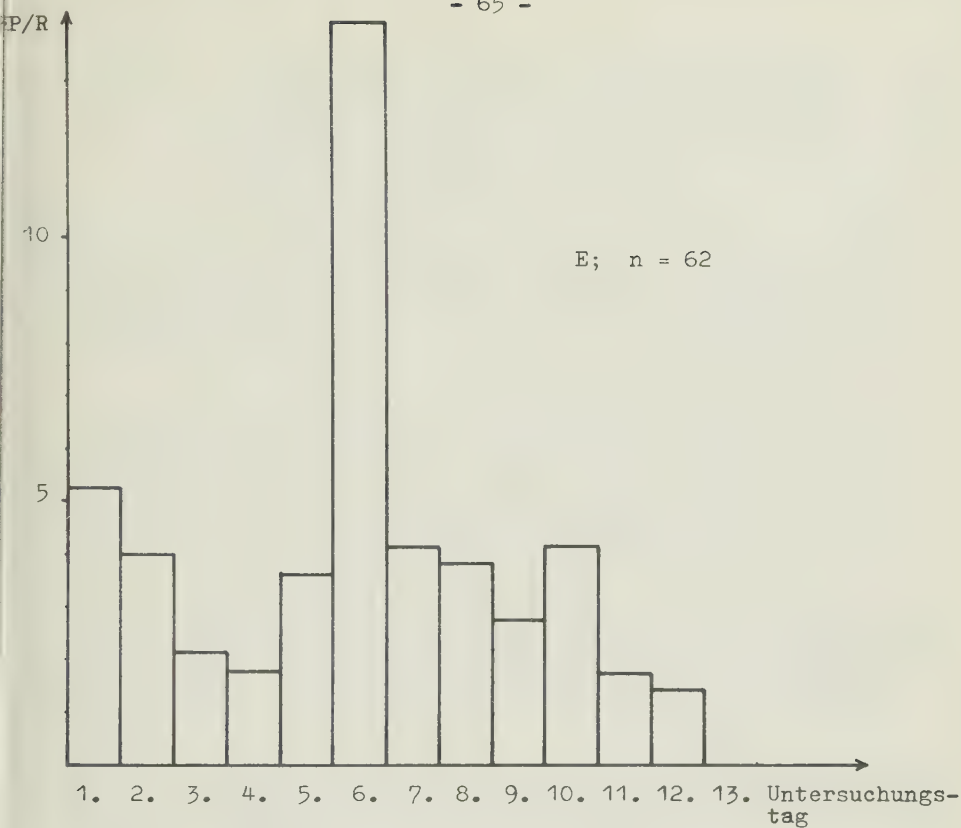


Abb. 13 Rasse E

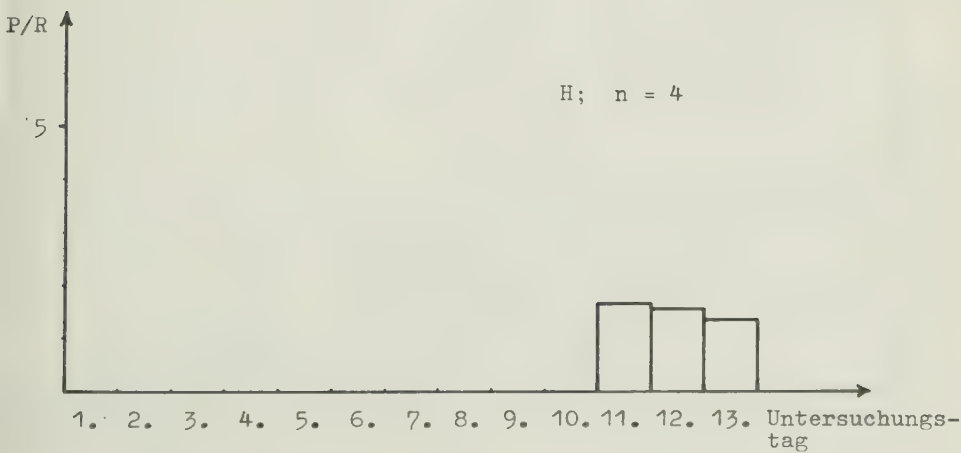


Abb. 14 Rasse H

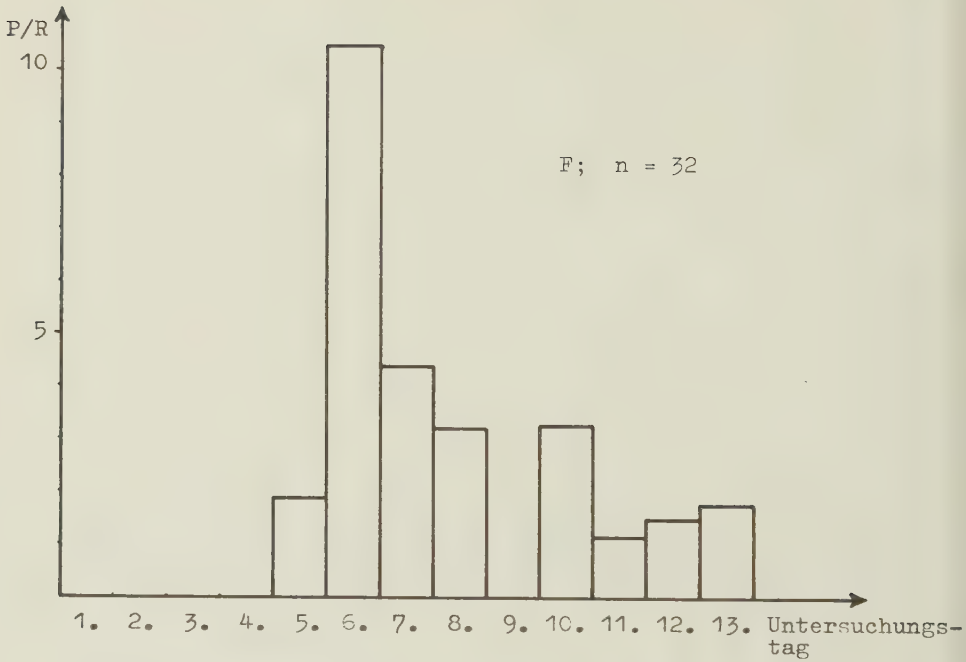


Abb. 15 Rasse F

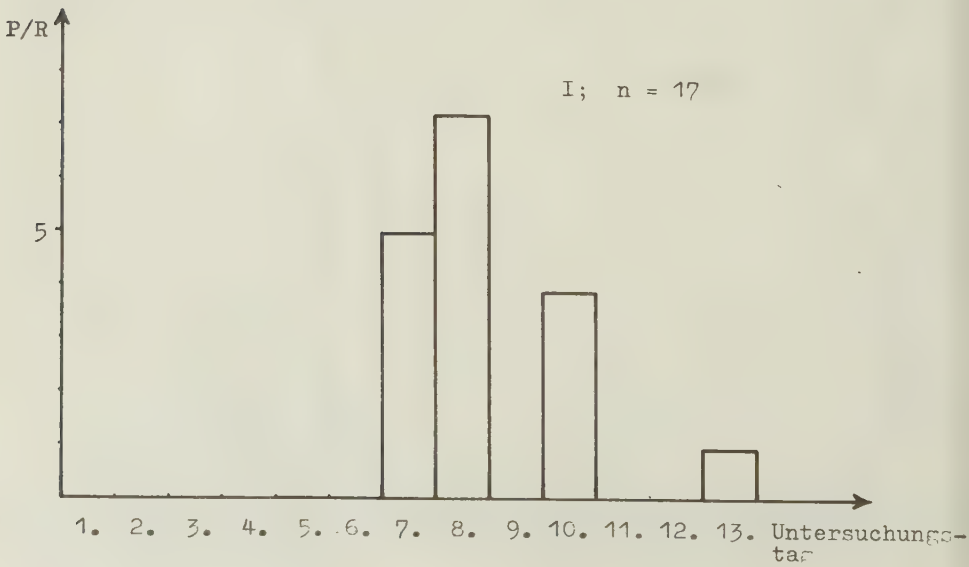


Abb. 16 Rasse I

3.3.5.2. Einfluß von Rassenunterschieden auf die Phago-
zytoseaktivität bei immunisierten und nicht
immunisierten Tieren

Für alle Tiere, die während der 14 Testtage untersucht wurden, wurden die Mittelwerte und die Standardabweichungen des P/R Wertes berechnet und eine Varianzanalyse nach SNEDECOR (1961) durchgeführt.

Da für die extrem hohen Werte am 6. Testtag (26.3.73) keine Erklärung gefunden wurde und Fehler im Versuchsansatz ausschließen (die Kontrollwerte der ruhenden Zellen wichen nicht von den Durchschnittswerten der anderen Testtage ab), wurden die Berechnungen einmal mit und einmal ohne Berücksichtigung des 6. Testtages durchgeführt.

Eine weitere Aufschlüsselung ergab sich dadurch, daß 150 Tiere am 18. und 3. Tage vor der Schlachtung mit einem künstlichen Antigen immunisiert worden waren.

Mit Berücksichtigung des 6. Testtages zeigen die Ergebnisse der einfachen Varianzanalyse für das Gesamtmaterial mit $F = 2,57$ ($p < 5\%$) und für die immunisierten Tiere mit $F = 2,87$ ($p < 1\%$) einen signifikanten Unterschied der Rassen bezüglich des P/R Wertes als Maß der Phagozytoseaktivität. Der Rassenunterschied der nicht immunisierten Tiere mit Berücksichtigung des 6. Testtages ist nicht signifikant (siehe Tabelle 14).

Ohne Berücksichtigung des 6. Testtages zeigen die Ergebnisse der einfachen Varianzanalyse für das Gesamtmaterial mit $F = 4,11$ ($p < 1\%$), für die immunisierten Tiere mit $F = 3,00$ ($p < 1\%$) und für die nicht immunisierten Tiere mit $F = 2,07$ ($p < 5\%$) einen signifikanten Rassenunterschied (siehe Tabelle 15).

Der Vergleich der Mittelwerte der immunisierten und nicht immunisierten Tiere der einzelnen Rassen zeigt, daß der Unterschied bei der Rasse D mit $t = 2,81$ (F.G. = 32) signifikant ($p < 1\%$) und bei der Rasse F mit $t = 2,92$ (F.G. = 24) signifikant ($p < 1\%$) ist. Der t-Test wurde ohne Berücksichtigung des 6. Testtages durchgeführt.

Tabelle 13 t-Test, Vergleich der immunisierten und der nicht immunisierten Tiere der einzelnen Rassen									
A	B	C	D	E	F	G	H	I	
1,30	0,06	0,82	2,81	1,21	2,92	1,46	-	1,74	t
68	9	16	32	55	24	19		11	F.G.
$p < 1\%$				$p < 1\%$					

Aus den Ergebnissen ergibt sich folgende Rangfolge der Phagozytoseaktivität P/R der verschiedenen Schweinerassen (kodifiziert) (siehe auch Abb. 17 und 18):

mit Berücksichtigung des 6. Testtages

I F E G B A D C H

ohne Berücksichtigung des 6. Testtages

I G B E A F D C H

Da am 6. Testtag E und F mit den höchsten Werten vertreten waren, verschiebt sich die Rangfolge zu ihren Gunsten.

Alle Rassen bis auf B zeigen eine Steigerung der Phagozytoseaktivität P/R nach Immunisierung mit einem künstlichen Antigen. Nach dem t-Test ist der Unterschied zwischen immunisierten und nicht immunisierten Tieren jedoch nur für D und F signifikant.

Tabelle 14 Rassenunterschiede des P/R Wertes

Mittelwerte, Standardabweichungen und
F-Werte des Gesamtmaterials, immunisierter
und nicht immunisierter Tiere mit Berücksichtigung des 6. Testtages

Rasse	Gesamtmaterial		immunisierte Tiere		nicht immunisierte Tiere	
	n	P/R	n	P/R	n	P/R
A	72	2,84 ±1,9	39	3,18 ±2,2	33	2,44 ±1,5
B	11	3,32 ±2,2	5	3,28 ±2,2	6	3,36 ±2,4
C	18	1,87 ±0,8	8	2,05 ±0,8	10	1,73 ±0,8
D	39	2,76 ±1,9	25	3,36 ±2,2	14	1,70 ±0,6
E	62	4,08 ±3,9	45	4,25 ±3,9	17	3,64 ±4,1
F	32	4,04 ±3,7	15	6,41 ±3,9	17	1,94 ±1,5
G	22	3,71 ±2,3	11	4,56 ±2,9	11	2,85 ±1,2
H	4	1,47 ±0,5	-	-	4	1,47 ±0,5
I	13	4,61 ±2,7 -	7	5,71 ±3,1	6	3,33 ±1,5
Total	273	3,34 ±2,8	155	3,99 -	118	2,49 ±2,1
F - Werte	F = 2,57 (p < 5%)		F = 2,87 (p < 1%)		F = 1,74 nicht signifikant	

Tabelle 15 Rassenunterschiede des P/R Wertes

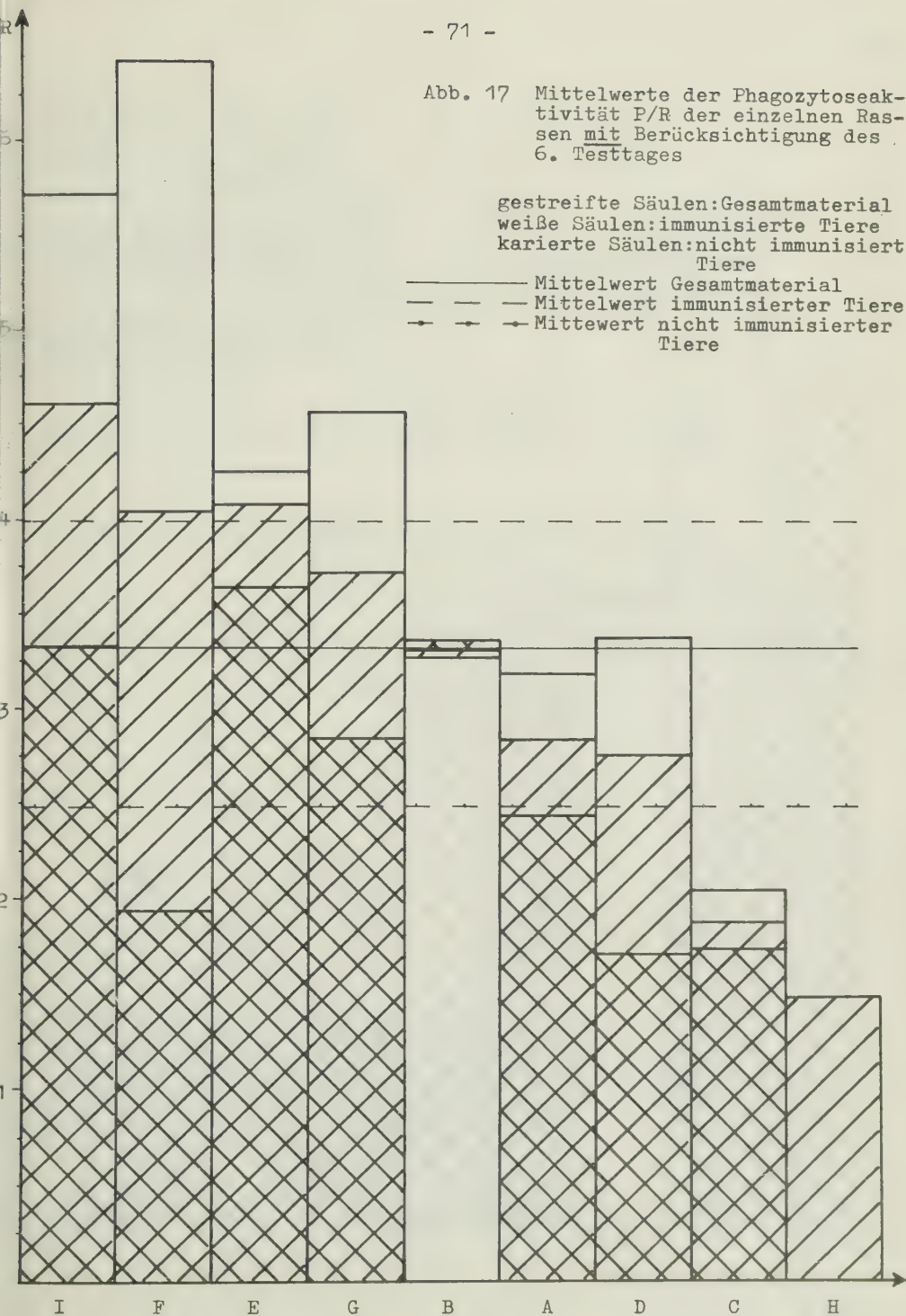
Mittelwerte, Standardabweichungen und
F-Werte des Gesamtmaterials, immunisierter
und nicht immunisierter Tiere ohne
Berücksichtigung des 6. Testtages

Rasse	Gesamtmaterial		immunisierte Tiere		nicht immunisierte Tiere	
	n	P/R	n	P/R	n	P/R
A	70	2,73 ±1,74	37	2,98 ±1,89	33	2,44 ±1,54
B	11	3,32 ±2,21	5	3,28 ±2,18	6	3,36 ±2,18
C	18	1,87 ±0,82	8	2,05 ±0,81	10	1,73 ±0,84
D	34	2,23 ±1,02	20	2,61 ±1,10	14	1,70 ±0,84
E	57	3,20 ±1,86	41	3,38 ±1,95	16	2,72 ±1,57
F	26	2,55 ±1,67	9	3,70 ±1,38	17	1,94 ±1,50
G	21	3,44 ±1,98	10	4,08 ±2,52	11	2,85 ±1,16
H	4	1,47 ±0,45	-	-	4	1,47 ±0,45
I	13	4,61 ±2,66	7	5,71 ±3,06	6	3,33 ±1,46
Total	254	2,82 -	137	3,06 -	117	2,39 -
F - Werte	F = 4,11 (p < 1%)		F = 3,00 (p < 1%)		F = 2,07 (p < 5%)	

Abb. 17 Mittelwerte der Phagozytoseaktivität P/R der einzelnen Rassen mit Berücksichtigung des 6. Testtages

gestreifte Säulen: Gesamtmaterial
weiße Säulen: immunisierte Tiere
karierte Säulen: nicht immunisierte Tiere

— Mittelwert Gesamtmaterial
— Mittelwert immunisierter Tiere
— Mittelwert nicht immunisierter Tiere



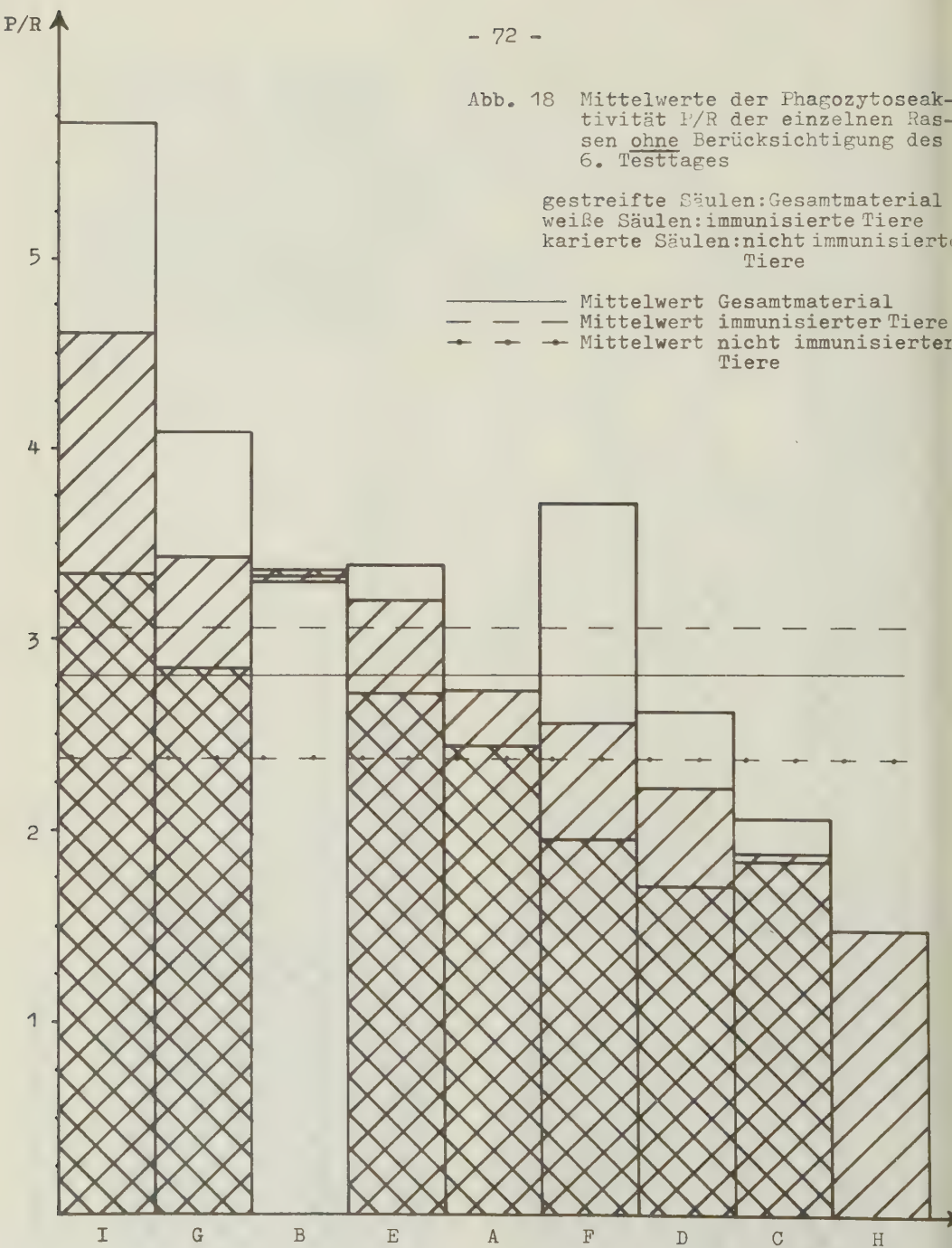
P/R

- 72 -

Abb. 18 Mittelwerte der Phagozytoseaktivität P/R der einzelnen Rassen ohne Berücksichtigung des 6. Testtages

gestreifte Säulen: Gesamtmaterial
weiße Säulen: immunisierte Tiere
karierte Säulen: nicht immunisierte Tiere

— Mittelwert Gesamtmaterial
- - - Mittelwert immunisierter Tiere
• • • Mittelwert nicht immunisierter Tiere



3.3.5.3. Einfluß des Alters auf die Phagozytoseaktivität

Das durchschnittliche Alter aller getesteten Tiere betrug am Tag der Schlachtung 211,7 Tage. Zwischen den einzelnen Rassen traten jedoch Schwankungen des Alters von 202,6 (I) bis zu 230,3 (H) Tagen auf. Diese Altersunterschiede führten zur Untersuchung möglicher Wechselbeziehungen zwischen dem Alter der Testtiere und dem P/R Wert.

Es wurde eine negative Korrelation zwischen dem P/R Wert und dem Alter der einzelnen Rassen festgestellt, jedoch nur für A mit $r = -0,281$ ($p < 5\%$) und E mit $r = -0,298$ ($p < 5\%$) signifikant.

Die Reihenfolge der Rangfolge des P/R Wertes der Rassen wird von der Reihenfolge der Durchschnittswerte des Alters der einzelnen Rassen signifikant beeinflusst, wie die Berechnung einer Rangkorrelation (SNEDECOR 1961) mit $r_s = -0,733$ ($p < 5\%$) zeigt. Die Reihenfolge des Körpergewichtes hat auf die Rangfolge des P/R Wertes keinen Einfluß.

Rangfolge

P/R Wert		Alter	
1	I	1	H
2	G	2	D
3	B	3	F
4	E	4	B
5	A	5	C
6	F	6	G
7	D	7	A
8	C	8	E
9	H	9	I

Aus der Gegenüberstellung der Rangfolgen von P/R Wert und Alter der einzelnen Rassen geht hervor, daß die P/R Werte umso höher sind, je jünger die Tiere zum Zeitpunkt des Schlachtens und damit des Testes waren (siehe Tabelle 16).

Tabelle 16 Durchschnittswerte und Standardabweichungen von Körpergewicht und Alter der einzelnen Rassen am Schlachtttag im Vergleich zum P/R Wert des Gesamtmaterials

Rasse	Anzahl	Körper- gewicht	Alter	P/R
A	72	116,6 ±10,7	207,5 ±11,2	2,84 ±1,9
B	11	122,4 ±10,7	211,2 ±5,8	3,32 ±2,2
C	18	120,7 ±8,9	210,7 ±9,9	1,87 ±1,9
D	39	107,8 ±5,2	225,0 ±14,4	2,76 ±1,9
E	62	117,6 ±7,7	206,1 ±9,3	4,08 ±3,9
F	32	115,4 ±7,5	219,9 ±13,1	4,04 ±3,7
G	22	112,5 ±5,8	208,2 ±9,0	3,71 ±2,3
H	4	121,8 ±5,9	230,3 ±7,2	1,47 ±0,5
I	13	116,6 ±9,3	202,6 ±10,9	4,61 ±2,7
Total	273	115,6 ±9,0	211,7 ±13,3	3,34 ±2,8
F - Wert				2,57 (p < 5%)

3.3.6. Einfluß verschiedener Krankheiten auf die Phagozytoseaktivität

Von den insgesamt untersuchten 305 Schweinen aus neun Rassen mußten 32 Tiere, die Anzeichen einer Krankheit aufwiesen, aus der Wertung ausgeschlossen werden, da der Einfluß der verschiedenen Krankheiten auf die Phagozytoseaktivität bislang unbekannt war.

Um den Einfluß einiger Krankheiten auf die Phagozytoseaktivität festzustellen, wurden die Tiere, bei denen eine Störung des Allgemeinzustandes besonders auffiel, vor der Schlachtung oder Tötung zusätzlich untersucht und eine Diagnose gestellt. So konnten 22 kranke Tiere notiert werden.

Die Abweichungen des P/R Wertes der kranken Tiere vom Mittelwert der 273 gesunden Tiere zeigten eine Abnahme bis zu 74 % bei einer Knochenaktinomykose und einer Zunahme des P/R Wertes bis zu 67 % bei einer eitrigen Nephritis (siehe Tabelle 17).

Tabelle 17 Vergleich des P/R Wertes von 22 kranken Schweinen unterschiedlicher Rassen mit dem Mittelwert P/R = 3,34 von 273 gesunden Schweinen

Diagnose	Rasse	P/R	Abweichungen vom Mittelwert P/R = 3,34 in Prozent
Beidseitige Femurfrakturen u. Frakturen der Dornfortsätze	A	2,59	- 22 %
Fraktur des 3. Lendenwirbels	B	4,31	+ 23 %
Epiphysiolysis	I	6,75	+ 51 %
Epiphysiolysis	E	2,42	- 28 %
Festliegen mit Decubitus	A	1,84	- 45 %
Festliegen mit Decubitus	G	2,46	- 26 %
Standschwäche	A	3,78	+ 12 %
Standschwäche u. Kachexie	E	7,03	+ 52 %
Entwicklungsstörungen	D	1,37	- 59 %
White muscle disease	A	3,25	- 3 %
Milzhypertrophie	E	3,07	- 8 %
Knochenaktinomykose	A	0,86	- 74 %
Milchdrüsenaktinomykose	A	3,12	- 7 %
Eitrige Pneumonie	F	3,62	+ 8 %
Eitrige Nephritis	E	10,27	+ 67 %
Panaritium	F	4,56	+ 27 %
Rhinitis atrophicans	A	1,48	- 56 %
Deckverletzung (moribund)	A	3,78	+ 12 %
Enteritis	C	3,73	+ 10 %
Großer Kastrationsabszeß	A	3,51	+ 5 %
Großer Kastrationsabszeß	E	1,19	- 64 %
Zwitter	A	2,19	- 34 %

4. Besprechung der Ergebnisse

Mit der Messung der $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung aus Glukose-1- ^{14}C von phagozytierenden und ruhenden Zellen des Blutes wurde versucht, die Phagozytoseaktivität (P/R) im Blut von Schweinen und anderen Haustieren festzustellen.

Die Stimulierung der Glukose-1- ^{14}C Oxidation über den Hexose-Monophosphat-Stoffwechselweg während der Phagozytose erwies sich als eine zuverlässige Methode zur Bestimmung der Phagozytoseaktivität im Blut von Haustieren.

Nach SKEEL u.a. (1971) können im Blut die phagozytierenden Zellen als hauptsächliche Quelle der Glukoseoxidation angesehen werden. KEUSCH u.a. (1972) benutzten diesen Test beim Menschen zur Feststellung der Phagozytendysfunktion im Blut von Patienten mit Agranulozytose und Leukose. Es besteht eine Wechselbeziehung zwischen bakteriziden Fähigkeiten und dem Anstieg der Hexose-Monophosphat-Stoffwechselaktivität nach der Partikelaufnahme (HOLMES u.a. 1972).

Die im Verlaufe dieser Arbeit mehrmals vorgenommenen Untersuchungen von Menschenblut derselben Spender auf die Phagozytoseaktivität (P/R) sollten der Überprüfung der Wiederholbarkeit des Testes dienen. Während die Werte für den einen Spender von Februar bis Mai nur geringe Abweichungen zeigten, so wichen die Werte des zweiten Spenders deutlich voneinander ab. Als mögliche Ursache könnte eine Erkrankung des zweiten Spenders vermutet werden.

Beim Vergleich der $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung als Maß der Phagozytoseaktivität (P/R) vom Menschen und mehreren Haustieren zeigte sich, daß die P/R Werte in durchaus ähnlichen Bereichen liegen, jedoch die absoluten Impulse pro Minute (IPM), also die Menge des ausgeschiedenen $^{14}\text{CO}_2$, erheblich voneinander abweichen. Das sagt aus, daß die absolute Stoffwechselaktivität bei der Phagozytose gleicher Mengen Polystyren-Latex Partikel,

beim Menschen wesentlich höher ist als beim Pferd oder Rind. Schon die ruhenden Blutzellen des Menschen zeigen eine fast doppelt so hohe $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung als die der im Test vertretenen Haustiere.

Wird an Stelle der Polystyren-Latex Partikel eine auf $3 \times 10^8/0,1$ ml eingestellte Bakteriensuspension von *Streptococcus epidermidis* verwendet, zeigt sich im Durchschnitt ein Anstieg der $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung von 96 % mit geringen Schwankungen, bei Polystyren-Latex beträgt der Anstieg dagegen nur 53 % im Durchschnitt mit wesentlich stärkeren Schwankungen. Daraus läßt sich schließen, daß ein eingestellter Testkeim, wie *Staphylococcus epidermidis*, für die hier verwendete Versuchsanordnung besser geeignet ist und eine 15fache (RAPOPORT 1964) und höhere Steigerung des direkten oxidativen Glukosestoffwechselweges und damit der $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung bewirkt. Die inerten Latex Partikel bewirken in keinem Falle einen dermaßen hohen und gleichmäßigen Anstieg der $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung und damit auch des P/R Wertes. Dies bestätigt die Vermutung von STRAUSS u.a. (1968), daß der Anstieg des oxidativen Glukosestoffwechselweges wahrscheinlich erst nach der Aufnahme der Partikel ausgelöst wird und für die Verdauung und Zerstörung der Partikel verantwortlich ist, während für die Aufnahme der Partikel die Glykolyse die Energie liefert. Danach kann man annehmen, daß die inerten Latex Partikel nach der Aufnahme den oxidativen Glukosestoffwechsel nur schwach anregen, da sie unverdaulich sind und nur im Zytoplasma gespeichert werden können. Aufgenommene Bakterien wie *Staphylococcus epidermidis* bewirken dagegen einen gleichmäßigen und kräftigen Anstieg des oxidativen Glukoseweges, da sie weitgehend aufgelöst und zerstört werden.

Gewaschenes Vollblut und isolierte Leukozyten zeigen eine schwächere Phagozytoseaktivität als ungewaschenes Vollblut und in Serum resuspendierte Leukozyten und resuspendiertes, gewaschenes Blutsediment. Auch SKEEL u.a. (1971) stellten fest, daß die durch die Partikelaufnahme stimulierte Glukoseoxidation im Blut

25 % höher ist als bei isolierten Leukozyten. Dies bestätigt die Rolle der PPF (Phagozytosis-Promoting-Factors, TULLIS & SURGENOR 1956), der Opsonine und des Bakteriotropins (NEUFELD 1903), des Komplements (DELAUNEY u.a. 1951), der Cytotaxine und Cytotaxigene (KELLER & SORKIN 1965), der Kalzium- und Magnesiumionen (NORTHOVER 1961) als Serumbestandteile, die die Phagozytose vorbereiten und unterstützen. Die beste Wirkung hatte meistens autologes oder homologes Serum als Zusatz zu gewaschenem Blutsediment und isolierten Leukozyten.

Durch den Zusatz von einigen Antibiotika und resistenzsteigernden Medikamenten sollte deren Einfluß auf die Phagozytoseaktivität (P/R) getestet werden. Um eine Keimschädigung auf einen Testkeim durch das Antibiotikum und eine damit verbundene erhöhte Phagozytosefähigkeit (ADAM 1972) auszuschließen, wurden inerte Polystyren-Latex Partikel zur Phagozytose angeboten. Damit konnte nun der eventuelle Einfluß der Zusätze auf den Glukose-1-¹⁴C-Stoffwechsel während der Phagozytose der inerten Latex Partikel festgestellt werden. In dieser Versuchsreihe trat eine teilweise Steigerung des P/R Wertes hauptsächlich nach Zusatz von Penicillinsalzen bis zu 69 % gegenüber den Versuchen ohne Zusatz auf. Man könnte daraus schließen, daß die verwendeten Penicillinsalze bei Zusätzen von 5 bis 10 µg in diesem Falle einen stimulierenden Einfluß auf den Glukose-1-¹⁴C-Stoffwechsel der Blutleukozyten haben. Aber dieses Ergebnis müßte in weiteren Versuchen mit größerem Tiermaterial bestätigt werden. SKEEL u.a. stellten 1971 keinen Einfluß von Penicillin-G, Kanamycin, Streptomycin und einigen anderen Antibiotika auf die durch Partikelaufnahme stimulierte Hexose-Monophosphat-Stoffwechselaktivität fest.

Die in dieser Versuchsreihe geprüften, die unspezifische Resistenz stimulierenden Medikamente bewirken in allen Fällen bei den verwendeten Konzentrationen eine zum Teil drastische Senkung des P/R Wertes unter <1. Das bedeutet, daß die

$^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung dieser Zellen unter den Werten der ruhenden Zellen liegt, was einer Hemmung gleichkommt. Selbst in einem Versuch mit *Staphylococcus epidermidis* als Testkeim trat eine Hemmung auf. Es ist daher zu vermuten, daß die verwendeten, die unspezifische Resistenz steigernden Medikamente in den verwendeten Konzentrationen die direkte Glukoseoxidation von Blutleukozyten während der Phagozytose herabsetzen, in den meisten Fällen sogar unter den Wert der ruhenden Zellen.

Die Schweine der Mastprüfanstalt Grub bildeten für Rassenvergleiche der Phagozytoseaktivität ein gutes Ausgangsmaterial, da neun verschiedene Rassen unter standardisierten Umweltbedingungen aufgezogen und ungefähr bei gleichem Körpergewicht und gleichem Alter geschlachtet wurden.

Es zeigte sich ein signifikanter Einfluß der einzelnen Testtage auf die Phagozytoseaktivität der jeweils geschlachteten Tiergruppe. Um von den unterschiedlichen Ergebnissen der einzelnen Testtage Rückschlüsse auf eventuelle jahreszeitliche Einflüsse zu ziehen, war der Untersuchungszeitraum von Februar bis Mai zu kurz, obwohl sich zwischen März und April eindeutig ein Höhepunkt der Phagozytoseaktivität bei den einzelnen Rassen und beim Gesamtmaterial erkennen läßt. Diese Beobachtung steht im Gegensatz zu denjenigen von SEWELL (1960) und LECHNER (1970), die einen Höhepunkt der Phagozytoseaktivität in den Sommermonaten und eine Abnahme in den Frühjahrsmonaten beobachteten.

Die Ergebnisse einer Varianzanalyse zeigten signifikante Rassenunterschiede in Bezug auf die Phagozytoseaktivität (P/R). Die Varianzanalyse wurde einmal mit Berücksichtigung der extrem hohen Werte des 6. Testtages und einmal ohne diese Werte ausgeführt, da ein Fehler im Versuch ausgeschlossen werden konnte und keine Erklärung für den ausgesprochen starken Anstieg der Phagozytoseaktivität an diesem Testtag gefunden wurde. Die Rangfolge der Rassen im Mittelwert der Phagozytoseaktivität (P/R) zeigt eine auffallende Übereinstimmung mit der Rangfolge der

Rassen im Mittelwert der antikörperbildenden Zellen der Milz nach Immunisierung mit Schaferferythrozyten (RADZIKOWSKI u.a.1973). Da die Tiere am Schlachtttag doch Altersunterschiede bis zu 28 Tagen aufwiesen, wurde der eventuelle Einfluß dieser Altersdifferenz auf den P/R Wert untersucht. Es wurde eine negative Korrelation zwischen dem P/R Wert und dem Alter der einzelnen Rassen festgestellt, die jedoch nur für zwei Rassen signifikant war. Die Berechnung einer Rangkorrelation zwischen der Rangfolge der Phagozytoseaktivität (P/R) und der Rangfolge des Durchschnittsalters der einzelnen Rassen war ebenfalls signifikant. Allein die bloße Gegenüberstellung der beiden Rangfolgen: P/R Wert und Alter zeigte, daß die Rassen mit den am Schlachtttag jüngsten Tieren die höchsten P/R Werte hatten, während umgekehrt die Rassen mit den ältesten Tieren auch die niedrigsten P/R Werte aufwiesen.

Von den 273 Schweinen wurden 150 mit einem künstlichen Antigen (Rinderserumalbumin + DNP + inkomplettes Freund'sches Adjuvans) am 18. und 3. Tag vor der Schlachtung immunisiert. Alle immunisierten Tiere der einzelnen Rassen mit einer Ausnahme zeigten eine erhöhte Phagozytoseaktivität. Nach dem t-Test ist der Unterschied zwischen immunisierten und nicht immunisierten Tieren jedoch nur für zwei Rassen signifikant. Die Wirkung des künstlichen Antigens auf die Phagozytose ist unbekannt. Auf die Verwendung des inkompletten Freund'schen Adjuvans zurückgehende, faustgroße Granulome zeigten sich bei mehreren Tieren in der Muskulatur an der Injektionsstelle, so daß eine Aktivierung und Auswanderung von Leukozyten an der Injektionsstelle vermutet werden kann.

Die Abweichungen der Phagozytoseaktivität der untersuchten kranken Tiere von dem Mittelwert (P/R) der 273 gesunden Tiere schwankt von einer 74%igen Abnahme bei einer Knochenaktinomykose bis zu einer 67%igen Zunahme der Phagozytoseaktivität bei einer

eitrigen Nephritis. Dies läßt jedoch im einzelnen kaum Rückschlüsse auf die jeweilige Krankheit zu, da weder über die jeweilige Krankheitsdauer noch über den jeweiligen genaueren Krankheitszustand etwas bekannt war.

5. Zusammenfassung

Die Messung der $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung aus der direkten Glukose-1- ^{14}C Oxidation von Blutleukozyten während der Phagozytose erwies sich als ein geeignetes Mittel zur Feststellung der Phagozytoseaktivität der Blutleukozyten von Haustieren.

Im einzelnen führten die Untersuchungen zu folgenden Ergebnissen:

1. Der Mensch und die einzelnen Haustierarten weichen mehr in der absoluten Stoffwechselaktivität, das heißt in der höheren $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung während der Phagozytose und im Ruhestadium, voneinander ab als in den P/R Werten.
2. Der Testkeim *Staphylococcus epidermidis* steigert die $^{14}\text{CO}_2$ -Ausscheidung der Phagozyten gleichmäßig um durchschnittlich 96 %, während die inerten Polystyren-Latex Partikel nur eine Erhöhung um durchschnittlich 53 % bewirkten und wesentlich höhere Abweichungen aufwiesen.
3. Durch Zusatz von Serum zu gewaschenem Blutsediment und isolierten Leukozyten wird die Phagozytoseaktivität erhöht.

4. Die verwendeten Penicillinsalze hatten bei einem Zusatz von 5 µg bis 10 µg einen steigernden Effekt auf die $^{14}\text{CO}_2$ Produktion bis zu 69 % während der Phagozytose von inerten Latex Partikeln, während alle anderen Antibiotika, die verwendet wurden, und die resistenzsteigernden Medikamente eine Hemmung hervorriefen.
5. Es konnte ein signifikanter Einfluß des jeweiligen Testtages auf die Phagozytoseaktivität (P/R) bei 273 Schweinen festgestellt werden.
6. Der Einfluß der Rassenunterschiede auf den P/R Wert ist signifikant, zum Teil aber von dem unterschiedlichen Durchschnittsalter der einzelnen Rassen am Schlachtttag beeinflusst.
7. Es zeigte sich eine Variation der P/R Werte mit signifikanten Unterschieden, die auf das Durchschnittsalter der einzelnen Rassen am Schlachtttag zurückzuführen ist. Die Rassen mit den jüngsten Tieren hatten die höchsten P/R Werte, während umgekehrt die Rassen mit den ältesten Tieren die niedrigsten P/R Werte hatten.
8. Die mit einem künstlichen Antigen und inkomplettem Freund'schen Adjuvans immunisierten Tiere wiesen eine gesteigerte Phagozytoseaktivität (P/R) gegenüber den nicht immunisierten Tieren auf. Auf die einzelnen Rassen bezogen war der Unterschied zwischen immunisierten und nicht immunisierten Tieren jedoch nur für zwei Rassen signifikant.
9. Die Abweichungen der untersuchten kranken Tiere vom P/R Wert der 273 gesunden Tiere schwankten zwischen einer Zunahme von bis zu 67 % und einer Abnahme bis zu 74 %.

5. Summary

The measurement of the oxidation rate of glucose-1- ^{14}C to $^{14}\text{CO}_2$ during phagocytosis proved to be a reliable method for estimating the phagocytic activity of leukocytes in domestic animals.

Summarizing the following results were obtained:

1. White blood cells of man and several domestic animals differed more regarding the absolute metabolic activity than in the ratio of $^{14}\text{CO}_2$ release in the presence of particles to that in their absence (P/R).
2. Using as test particles *Staphylococcus epidermidis* bacteria an increase in the $^{14}\text{CO}_2$ production at an average of 96 % was reserved; inert polystyrene-latex particles gave only an average of 53 % increase with a much higher variation of the P/R values.
3. Addition of serum to washed blood sediment and isolated leukocytes stimulated the phagocytic activity.
4. The different types of penicillin used in the test had a stimulating effect on the production of $^{14}\text{CO}_2$ up to 69 % during phagocytosis of inert polystyrene-latex particles at a quantity of 5 μg to 10 μg , whereas the other antibiotics and resistance stimulating medicaments tested inhibited the $^{14}\text{CO}_2$ production.
5. Significant influences on the phagocytic activity (P/R) from 273 swines due to the day of test were ascertained.

6. The breed influence on P/R values is significant, but probably influenced by the differing average age of the animals of the several breeds at the day of slaughter.
7. Significant differences of the P/R values refering to the average age of the animals at the day of slaughter would be demonstrated. The breeds with the youngest animals had the highest P/R values, whereas the breeds with the oldest animals had the lowest P/R values.
8. The animals which were immunised with an artificial antigen showed an increased phagocytic activity as compared to the non-immunised animals. Concerning the individuel breeds tested the difference between immunised and non-immunised animals was only significant for two breeds.
9. The P/R values of the animals with several pathologic deviations differed from the mean P/R value of 273 clinically healthy animals.

6. Literaturverzeichnis

1. Adam, D. 1972
Der aktive Einfluß von Faktoren des Wirtsorganismus auf die antimikrobielle Wirksamkeit von Chemotherapeutika:
Untersuchungen in vitro mit Serum und Makrophagen.
Habilitationsschrift München
2. Ado, A.D. 1933
Über den Verlauf der oxidativen und glykolytischen Prozesse in den Leukozyten des entzündeten Gewebes während der Phagozytose.
Z. ges. exptl. Med. 87 ; 473
3. Allison, F., M.R. Smith & W.B. Wood 1955
The inflammatory reaction to thermal injury as observed in the rabbit ear chamber.
J. Exptl. Med. 102 ; 655
4. Andrews, C.H. 1967
Climate, weather and season in relation to respiratory infection.
Biometeorology 2 ; 56
5. Baldrige, C.W. & R.W. Gerard 1933
The extra respiration of phagocytosis.
Ann. J. Physiol. 103 ; 255
6. Bazin, S. & C. Avice 1953
Le metabolisme glycogenic des polynucléaires aux cours de la phagocytose in vitro.
C. R. Soc.Biol. 147 ; 1025
7. Beck W. S. 1958
The control of leukocyte glykolysis.
J. Biol. Chem. 232 ; 251

8. Becker, H., G. Munder & H. Fischer 1958
Über den Leukozytenstoffwechsel bei
der Phagozytose.
Z. Physiol. Chem. 313 ; 266
9. Berry, J.L., R.W. Starr & Haller E.C. 1949
The effect of surface-active agents
on phagocytosis.
J. Bact. 57 ; 603
10. Biozzi, G., B. Benaceraff & B.N. Halpen 1953
Quantitative study of the granulopeptic
activity of the reticulo-endothelial system.
Brit. J. Exptl. Pathol. 34 ; 441
11. Bloom, W. & D.W. Fawcett 1968
In a 'Textbook of Histology'
Ninth Edition, W.B. Saunders Co., Philadelphia
12. Bloch, G. 1896
Ueber Chemotaxis
Zbl. allg. Path. 7 ; 785
13. Boyden, S.V. 1962
The chemotactic effect of mixtures of
antibody and antigen on polymorphonuclear
leukocytes.
J. Exptl. Med. 115 ; 453
14. Brüggemann, J., H. Hill, V. Horn, A. Kment,
J. Moustgard & H. Spörri 1965
'Scheunert-Trautmann' Lehrbuch der
Veterinär-Physiologie.
Paul Parey Verlag, Berlin u. Hamburg
15. Büsing, K.H. 1958
Die Beeinflussung des Properdinspiegels durch
Extrakte aus Echinacea purpura beim Kaninchen.
Z. Imm. Forsch. 11 ; 33
16. Burgel, S. 1921
Die Lymphozytose.
Springer Verlag Berlin

17. Buschmann, H., & W. Preuss 1968
Methoden und Erfahrungen bei der Prüfung
von resistenzfördernden Präparaten.
Z. Immunforschung 136 ; 457
18. Cline, M.J. 1965
Metabolism of the circulating leukocyte.
Physiol. Rev. 45 ; 674
19. Cohn, Z.A. & J.G. Hirsch 1960
The influence of phagocytosis on the intra-
cellular distribution of granule-associated
components of polymorphonuclear leukocyte.
J. Exptl. Med. 112 ; 1015
20. Cohn, Z.A. & J.G. Hirsch 1960
The isolation and properties of the specific
cytoplasmic granules of rabbit polymorphonu-
clear leukocytes.
J. Exptl. Med. 112 ; 983
21. Cohn, Z.A. & S.J. Morse 1960
Functional and metabolic properties of
polymorphonuclear leukocytes:
I. Observation on the requirements and
consequences of particle ingestion.
J. Exptl. Med. 111 ; 667
22. Commandon, J. 1917
Phagocytose in vitro des hematozoaires
du calfat.
C. R. Soc. Biol. (Paris) 80 ; 314
23. Coxon, R.V. & R.J. Robinson 1956
Carbohydrat metabolism in blood cells
studied by means of isotopic carbon.
Proc. Roy. Soc. (London) 145 ; 232
24. Craddock, C.J. Jr. 1960
The physiology of granulocytic cells
in normal and leukemic states.
Ann. J. Med. 28 ; 711

25. De Duve, C., C. Pressman, R. Gianetto, R. Wattiaux &
F. Apfelmans 1955
Tissue Fractionation Studies
Biochem. J. 60 ; 604
26. De Duve, C. 1969
The lysosome in retrospect.
in 'Lysosomes in Biology and Pathology'
Editors Dingel J.T. & H.B. Fell
North-Holland Publ. Comp. Amsterdam-London
S. 13
27. Delaunay, A., L. Leburn & M. Barber 1951
Factors involved 'chemotactism' of
leukocytes in vitro.
Nature 167 ; 774
28. Doskocil A. 1923
Phagocytosis in tuberculosis.
Praha 2
29. Downey, R.J. 1970
Functions of granulocytes in infectious
diseases.
Aus 'Resistenz to Infectious Disease'.
(R.H. Dunlop & H.W. Moon etc.)
Saskatoon Modern Press
30. Downey, R.J. & M. Kajima 1967
Influence of serum on intracellular digestion
of Staph. aureus by polymorphonuclear neutro-
philes from guinea pig.
J. Reticuloendothelial Soc. 4 ; 168
31. Downey, R.J. & J.C. Pisano 1966
Effect of bacitracin on in vitro phagocytosis.
Nature 210 ; 654
32. Edwards, J.G. 1925
Formation of food cups in Amoeba induced
by chemicals.
Biol. Bull. 48 ; 236

33. Elsbach, P. 1959
Composition and synthesis of lipids in
resting and phagocytizing leukocytes.
J. Exptl. Med. 110 ; 969
34. Engström, A. & J.B. Finean 1958
Biological Ultrastructure.
Academic Press, Inc., New York
35. Eppinger, H. 1949
Die Permeabilitäts-Pathogenese als die
Lehre vom Krankheitsbeginn.
Springer Verlag, Wien Publ.
36. Esman, V. 1961
The glycogen content of leukocytes from
diabetic and non-diabetic subjects.
Scand. J. Clin. Lab. Invest. 13 ; 134
37. Essner, E. 1960
An electron microscopic study of erythro-
phagocytosis.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 7 ; 329
38. Evans, W.H. 1961
Zitat nach Karnovsky in
'Biological Activity of the Leukocyte'.
Ed. Wolstenhohm, G.E.W. and Malve O'Connor,
London, p. 60
39. Evans, W.H. & M.L. Karnovsky 1961
A possible mechanism for the stimulation
of some metabolic functions during phagocytosis.
J. Biol. Chem. 236 ; PC 30
40. Fenn, W.O. 1921
Theoretical response of cells to contact.
J. Gen. Physiol. 41 ; 384

41. Fisher, T.N. & H.S. Ginsberg 1956
The reaction of influenza viruses with guinea
pig polymorphonuclear leukocytes.
III. Studies on the mechanism by which influenza
viruses inhibit phagocytosis.
Virology 2 ; 656
42. Frei, J., C. Borel & A. Vanotti 1961
Modification metabolitique au niveau du
leukocyte humain pendant la phagocytose.
Enzymol. Biol. Clin. 1 ; 149
43. Gellhorn, E. & J.O. Dunn 1937
The influence of lack of vitamin A in the
diet on the phagocytosis promoting properties
of the blood serum.
J. Nutrition 13 ; 317
44. Giannico, O. & P. Marazza 1957
Lazione degli estratti di timo sul sistema
reticulo-endotheliale.
Fisiol. & Med. 15 ; No. 6
45. Goldschneider, A. & P. Jacob 1894
Ueber die Variationen der Leukocytose
Z.klin.Med. 35 ; 373
46. Goodman, J.R. & R.E. Moore 1956
Electron microscopic study of phagocytosis
of Staphylococcus by human leukocytes.
J. Bact. 71 ; 547
47. Gordon, A.S. 1955
Hormonal influences on leukocytes.
Ann. N.Y. Acad. 5 ; 919
48. Grafe, E. 1911
Die Steigerung des Stoffwechsels bei
chronischer Leukämie und ihre Ursachen.
Arch. Klin. Med. 102 ; 406

49. Grau, H. & P. Walter 1967
Grundriss der vergleichenden mikroskopischen
Anatomie der Haussäugetiere.
Paul Parey Verlag, Berlin & Hamburg
50. Haan, E.von & T.T. Forst 1939
Changes in the parenchymatous organs
produced by artificially fever.
Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 42 ; 99
51. Haase, H. 1964
'Lebenselixier Blut'
Frank'sche Verlagshandlung, Stuttgart
52. Harris, H. 1953
Chemotaxis of Granulocyte.
J. Path. Bact. 66 ; 135
53. Harris, H. 1961
Functions of the Blood.
Ed. R.G. Mac Farlane & A.H.T. Smith
Acad. Press Inc., New York
54. Herlyn, M. 1972
Die medikamentelle Steigerung der unspe-
zifischen Resistenz.
Inaugural-Dissertation, München
55. Hirsch, J.G. 1966
Demonstration by fluorescence microscopy
of adsorption onto bacteria of heat-labile
factor guinea pig serum.
J. Imm. 92 ; 155
56. Hirsch, J.G. 1956 a
Biochemical studies on the bactericidal
power of phagocytic cells.
Ann. N.Y. Acad. 66 ; 382
57. Hirsch, J.G. 1956 b
Phagocytin : a bactericidal substance from
polymorphonuclear leukocytes.
J. Exptl. Med. 103 ; 589

58. Hirsch, J.G. 1956 c
Studies on the bactericidal action of
Phagocyttin.
J. Exptl. Med. 103 ; 613
59. Hirsch, J.G. 1962
Cinemicrophoto observations on granule lysis
in polymorphonuclear leukocytes during phagocytosis.
J. Exptl. Med. 116 ; 827
60. Hirsch, J.G. 1960
Degranulation of polymorphonuclear leukocytes
following phagocytosis of microorganism.
J. Exptl. Med. 112 ; 1005
61. Holmes, B., N. Day, J. Haseman & R.A. Good 1972
Development of bactericidal capacity and
phagocytosis associated metabolism of
fetal pig leukocytes.
Infection and Immunity 5 ; 232
62. Holter, H. 1959 a
Problems of pinocytosis with special
regards to amoeba.
Ann. N.Y. Acad. 78 ; 524
63. Holter, H. 1959 b
Pinocytosis
Int. Rev. Cytol. 8 ; 481
64. Humphrey, J.H. & R.G. White 1970
'Immunology for Students of Medicine'
Blackwell Scientific Publications, London
S. 36
65. Hurley, J.V. 1964
Substances promoting leukocyte emigration.
Ann. N.Y. Acad. 116 ; 918
66. Hurley, J.V. & W.G. Spetor 1961
Endogenous factors responsible for
leukocyte emigration in vivo.
J. Path. Bact. 82 ; 403

67. Iyer, G.Y., M.F. Islam & J.H. Quastel 1961
Biochemical aspects on phagocytosis.
Nature 192 ; 535
68. Karlson, P. 1967
Biochemie
Thieme Verlag Stuttgart, S. 174
69. Karnovsky, M.L. & A.J. Sbarra
Metabolic changes accompanying the ingestion
of particulate matter by cells.
Am. J. Clin. Nutr. 8 ; 147
70. Karnovsky, M.L. & D.F.H. Wallach 1960
The metabolic basis on phagocytosis.
III. Incorporation of inorganic phosphate
into various classes of phosphatides
during phagocytosis.
J. Biol. Chem. 236 ; 1895
71. Karnovsky, M.L. 1962
Biological activity of leukocyte.
Physiol. Rev. 42 ; 143
72. Karrer, H.E. 1960
Electron microscopic study on
phagocytosis process in lung.
J. Biophys. Biochem. Cytol. 2 ; 357
73. Keller, H.U. & E. Sorkin 1965
The significance of normal serum for
chemotaxis induced by various agents.
Immunology 2 ; 441
74. Keller, H.U. & E. Sorkin 1967 a
Studies on chemotaxis.
Int. Archs. Allergy appl. Imm. 31 ; 505
75. Keller, H.U. & E. Sorkin 1967 b
Chemotaxis von Leukocyten induziert durch
Leukocyten in vitro.
Helv. Physiol. Pharm. Acta 25 ; CR 199

76. Keller, H.U. & E. Sorkin 1968
Chemotaxis of leukocytes.
Experientia, Basel 24 ; 641
77. Keusch, G.T., L. Weinstein & G.F. Grady 1971
Biochemical effects of cholera enterotoxin.
II. Glucose metabolism in the intestine of
the infant rabbit.
J. Infekt. Disease 124 ; 188
78. Keusch, G.T., S.D. Douglas, D. Mildvan & S.Z. Hirschmann
1972
¹⁴C-Glucose oxidation in whole blood:
a clinical essay for phagocyte dysfunction.
Infektion and Immunity 2 ; 414
79. Klebanoff, J.G. 1968
Myeloperoxidase-halid-hydrogenperoxid
antibactericidal system.
J. Bacteriology 95 ; 2131
80. Kovalenko, J.R. & M.A. Siderow 1970
Der Einfluß der Umweltfaktoren auf die Resis-
tenz des Organismus und die Immungenese.
Arch. exp. Vet. Med. 24 ; 113
81. Kuna, A. & B. Blattberg 1951
Effect of starvation on phagocytosis in vivo.
Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 42 ; 99
82. Lechner, U. 1969
Untersuchungen zur Frage der Variation der
Phagozytoserate im Blut von Schweinen.
Inaugural-Dissertation, München
83. Lewis, W.H. 1931
Pinocytosis
Bull. Johns Hopkins Hosp. 49 ; 17

84. Lockwood, W.R. & F. Allison 1963
Electron micrographic studies of phagocytic cells. I. Morphological changes of the cytoplasm and granules of rabbit granulocytes associated with ingestion of rough pneumococci.
Brit. J. exp. Path. 44 ; 593
85. Ludany, G. & J. Vadja 1950
Die Wirkung von Histaminen und Antihistaminen auf die Phagozytose.
Archs. Int. Pharmacodyn. Ther. 85 ; 484
86. Magerl, J.F. 1938
Die Auslösung immunbiologischer Reaktionen durch Eigenblut- und Omnadininjektionen.
Wiener klin. Wschr. 51 ; 353
87. Magerl, J.F. 1942
Die Bedeutung und Wirkung des Heparin und anderer blutgerinnungshemmender Stoffe für die Auslösung immunbiologischer Abwehrreaktionen bei bakteriellen Erkrankungen.
Z. Immun. Forsch. exp. Ther. 101 ; 168
88. Marchesi, V.T. & H.W. Florey 1960
Electron micrographic observation on emigration of leukocytes
Q. J. exp. Physiol. 45 ; 343
89. Marcus, S., D.W. Esplin & G.A. Hill 1953
Effects of Cortisone, Ascorbic Acid and Piromen on Phagocytosis in Mice.
Proc. Soc. Exp. Biol. 84 ; 565
90. Massart, J. & C. Bordet 1890
Recherches sur l'irritabilité des leukocytes sur cellules et dans l'inflammation.
J. Méd. Chir. Pharmacol. 90 ; 169
91. Menkin, V. 1938
Isolation of the factor concerned with increased capillary permeability in injury.
J. Exptl. Med. 34 ; 375

92. Metchnikoff, E. 1883
Arbeit an dem Zool. Institut Wien
Zitat nach Wright C.S. & M.C. Dodd 1955
Ann. N.Y. Acad. 59 ; 945
93. Metchnikoff, E. 1893
Lecture on the comparative pathologie
of inflammation.
Kegan Paul, Trench Trubner & Co, Ltd. London
94. Metchnikoff, E. 1901
L'immunité dans les maladies infectieuses.
Masson, Paris
95. Metchnikoff, E. 1905
Immunity in infective diseases.
Cambridge Univ. Press, England
96. Mill, C.A. & E. Cottingham 1943
Phagocytic activity as effected by protein
intake in heat and cold.
J. Immunol. 47 ; 503
97. Möse, J.R. & G. Lukas 1961
Versuche über die Wirkungsweise der
Aristolochia clematis (Osterluzel).
Arzneimittel Forsch. 11 ; 33
98. Nelson, D.S. 1968
Macrophages and Immunity
North Holland Publ., Amsterdam
99. Nelson, R.A.Jr. & J. Leburn 1956
The requirement for antibody and complement
for in vitro phagocytosis of starch granules.
J. Hyg. 54 ; 8
100. Neufeld, F. & W. Rimpau 1904
Ueber die Antikörper des Streptokokken- und
Pneumokokken-Immunserums.
Deutsche Med. Wschr. 30 ; 1458

101. Nicol, T., D.L.J. Bilbey, L.M. Charles, J.L. Cordingley
& B. Vernon-Roberts 1964
Oestrogen: the natural stimulant of
body defence.
J. Endocrin. 30 ; 277
102. Northover, B.J. 1961
Influence of the charge on a serum protein
molecule and its ability to stimulate or
inhibit phagocytosis.
Nature 189 ; 547
103. Nungester, W.J. 1951
Mechanism of man's resistance to
infectious disease.
Bact. Revs. 15 ; 117
104. Nungester, W.J., A.M. Ames & W. Lanning 1952 a
Electrophoresis studies of leukocytes and bacteria
in relation to the mechanism of phagocytosis.
J. Inf. Diseases 90 ; 61
105. Nungester, W.J. & A.M. Ames 1952 b
Effect of selected chemical substances
on phagocytosis.
J. Inf. Diseases 90 ; 51
106. Otto, F. 1970
Granulozytenisolierung aus dem Blut des
Menschen und der Tiere.
Blut 21 ; 290
107. Pfeffer, W. 1884
Locomotorische Richtungsbewegungen
durch chemische Reize.
Untersuchungen aus dem Botanischen
Institut Tübingen 1 ; 363
108. Ponder, E.J. 1928
The influence of surface charge and of
cytoplasmic viscosity on the phagocytosis
of a particle.
J. Gen. Physiol. 11 ; 757

109. Qualliotine, D., L.R. de Chatelat, C.E. Mac Call & M.R. Cooper 1972
Effect of catecholamines on the bactericidal activity of polymorphonuclear leukocytes.
Infection and Immunity 6 ; 211
110. Quastel, J.G.
Zitat nach Roberts J. & Z. Camacho 1967
Oxidation of NADPH by polymorphonuclear leukocytes during phagocytosis.
Nature 216 ; 606
111. Radzikowski, A., J. Meyer, H. Buschmann, G. Averdunk, H.M. Brendl & K. Osterkorn 1973
Zur Variation der Immunantwort bei mehreren Schweinerassen. I. Mitteilung: Variation der Immunantwort gegenüber Schaferythrozyten.
Zschr. Tierz. Züchtungsbiol. im Druck
112. Rapoport, S.M. 1964
Stoffwechsel in der Phagozytose.
Aus 'Medizinische Biochemie', S. 610
VEB Verlag Volk und Gesundheit, Berlin
113. Rebruck, J.W., W.R. Smith & R.R. Manguils 1951
The modification of leukocytic function in human window by ACTH.
Gastroenterology 19 ; 644
114. Rhumbler, L. 1910
Die verschiedenartigen Nahrungsaufnahmen bei Amöben als Folge verschiedener Colloidale-zustände ihrer Oberflächen.
Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen 30 ; 194
115. Roberts, J. & Z. Camacho 1967
Oxidation of NADPH by polymorphonuclear leukocytes during phagocytosis.
Nature 216 ; 606

116. Robineaux, J. & J. Frederic 1955
Contreleution à l'étude des granulation
neutrophiles des polynucléaires par le
microcinematographic en contrast de phase.
C.R. Soc. Biol. 149 ; 486
117. Roger, D.E. & R. Thompsett 1952
The survival of staphylococci within
human leukocytes.
J. Exptl. Med. 103 ; 589
118. Rossi, F. & M. Zatti 1964
Changes in the metabolic pattern of poly-
morphonuclear leukocytes during phagocytosis.
Brit. J. Exp. Path. 45 ; 548
119. Rous, P. 1925
The relative reaction within living mamalian
tissues: II. On the metabolisation of acid
material within cells, and the reaction as
influenced by the cell state.
J. Exptl. Med. 41 ; 399
120. Rowley, D. 1966
Phagocytosis and immunity.
Experimentia (Basel) 22 ; 1
121. Salton, M.J.R. 1953
Cell structure and the enzymatic lysis
of bacteria.
J. Gen. Microbiol. 9 ; 512
122. Saslow, S. & C.A. Doan 1947
The role of phagocytosis in resistance as
related to age of granulocytes following
primary and secondary reinfection, studies
with hemolytic streptococci in Macous Rhesus.
J. Lab. Clin. Med. 32 ; 878

123. Sbarra, A.J. & M.L. Karnovsky 1959
The biochemical basis of phagocytosis.
I. Metabolic changes during ingestion of
particles by polymorphonuclear leukocytes.
J. Biol. Chem. 234 ; 1355
124. Sbarra, A.J. & M.L. Karnovsky 1960
The biochemical basis of phagocytosis.
II. Incorporation of ^{14}C labelled building
blocks into lipid, protein and glycogen
during phagocytosis.
J. Biol. Chem. 235 ; 2224
125. Sbarra, A.J., W.A. Bardavil, W. Shirley & R.F. Gilfilan
1961
Degranulation of guinea pig leukocytes
accompanying phagocytosis.
Exp. Cell. Res. 24 ; 609
126. Selvaraj, R.J. & A.J. Sbarra 1966
Relationship of glycolytic and oxidative
metabolism to particle entry and destruction
in the phagocytising cells.
Nature 211 ; 1271
127. Sevell, I.A. 1960
Seasonal variations of the phagocytic activity
of the reticuloendothelial system.
Immunology 3 ; 371
128. Sicherer, O. von 1896
Chemotaxis der Warmblüter-Leukocyten
ausserhalb des Körpers.
Münch. Med. Wschr. 43 ; 343
129. Sieracki, J.C. 1955
The neutrophilic leukocyte.
Ann. N.Y. Acad. 5 ; 693

130. Skeel, R.T., R.A. Yankee, W.A. Spivak, L. Novikows
& E.S. Henderson 1969
Leukocyte preservation. 1. Phagocytic
stimulation of the hexose monophosphat
shunt as a measure of cell viability.
J. Lab. Clin. Med. 73 ; 327
131. Skeel, R.T., R.A. Yankee & E.S. Henderson 1971
Hexose monophosphat shunt activity of
circulating phagocytes in acute lymphocytic
leukemia.
J. Lab. Clin. Med. 77 ; 975
132. Snedecor, G.W. 1961
Statistical Methods
Iowa State Univ. Press
133. Snell, R.S. & T. Nicol 1955
Effect of testosterone and androstene
3 -17 -Diol on the activity of the
reticulo-endothelial system.
Nature 178 ; 1405
134. Stähelein, H., M.L. Karnovsky & E. Sutter 1956
Studies on the interaction between phagocytosis
and tubercle bacilli. I. Observation on the
metabolism of guinea pig leukocytes and the
influence of phagocytosis.
J. Exptl. Med. 104 ; 121
135. Stähelein, H., M.L. Karnovsky, A.E. Farnham & E. Sutter
1957
Studies on the interaction between phagocytosis
and tubercle bacilli. III. Some metabolic
effects in guinea pigs associated with in-
fection with tubercle bacilli.
J. Exptl. Med. 105 ; 265
136. Stehr, K. & H. Wahle 1968
Über die Wirkung von Aristolochiasäure
auf die Phagocytose.
Arch. Kinderhkl. 177 ; 183

137. Strauss, B.W. unveröffentlicht
Zitat nach Karnovsky, M.L. 1962 in
'Biochemical activity of the leukocyt'
Physiol. Rev. 42 ; 143
138. Strauss, R.R., B.B. Paul & A.J. Sbarra 1968
Effect of phenylbutazone on phagocytosis
in intracellular killing by guinea pig
polymorphonuclear leukocytes.
J. Bact. 96 ; 1982
139. Timiras, P.S. 1953
Phagocytosis and the hypophysis-adreno-
cortical system.
Acta endocrinologica, Copenhagen,
Suppl. 11 ; 117
140. Tullis, J.L. & D.M. Surgenor 1956
Phagocytosis-promoting-factor of
plasma and serum.
Ann. N.Y. Acad. 66 ; 386
141. Vадja, G., P. Baumann & L. Goreczky 1959
Die Wirkung der vegetativen Nerventätigkeit
auf die phagozytosefördernde Fähigkeit des
Serums.
Z. Immun. Forsch. 117 ; 213
142. Van Furth, R. & Z.A. Cohn 1968
The origin and kinetics of
mononuclear phagocytes.
J. Exptl. Med. 128 ; 415
143. Wilkins, D.J. & A.D. Bangham 1964
The effect of some metal ions on
in vitro phagocytosis.
J. Reticuloendothelial Soc. 1 ; 233

144. Wolf, E.P. 1921
Experimental studies on inflammation.
I. The influence of chemicals upon the
chemotaxis of leukocytes in vitro.
J. Exptl. Med. 34 ; 375
145. Wood, W.B. 1960
Phagocytosis with particular reference
to encapseld bacteria.
Bacteriol. Rev. 24 ; 41
146. Woodin, A.M. 1961
The extrusion of protein from the rabbit
polymorphonuclear leukocytes treated with
staphylococcal leukocidin.
Biochem. J. 82 ; 9
147. Wright, C.S. & M.C. Dodd 1955
Phagocytosis
Ann. N.Y. Acad. 59 ; 945
148. Wright, A.E. & S.R. Douglas 1903
An experimental investigation of the role of
the blood fluids in connection with phagocytosis.
Proc. Royal Soc., London 72 ; 357
149. Zucker-Franklin, D. & J.G. Hirsch 1964
Electron microscopic studies on the
degranulation of rabbit peritoneal
leukocytes during phagocytosis.
J. Exptl. Med. 120 ; 569
150. Zylberszac, S. 1933
Mice en éviance du systeme réticulo-endothélial
par une substance sans effect caryoclastique.
C. R. Soc. Biol. 113 ; 89

Herrn Prof Dr. Dr. h.c. A. Mayr möchte ich für die vorzüglichen Arbeitsmöglichkeiten an seinem Institut danken.

Herrn Priv. Doz. Dr. H. Buschmann bin ich für die Überlassung des Themas, die Betreuung und die jederzeit gewährte Aussprache zu besonderem Dank verpflichtet.

Für die Unterstützung bei der Aktivitätsbestimmung der Proben im Flüssigkeits-Scintillations-Spektrometer möchte ich Herrn Doz. Dr. E. Scharrer danken.

Herrn Dr. K. Osterkorn möchte ich für die Hilfe bei der biometrischen Behandlung der Daten danken.

Lebenslauf

Am 15.4.1944 wurde ich, Wolfgang Altstaedten, als drittes Kind des Kaufmannes Hugo Altstaedten und seiner Ehefrau Elisabeth, geb. Ponsar, in Bergheim/Erft geboren.

Nach vier Jahren Volksschule in Großkönigsdorf von 1951-1955 besuchte ich das neusprachliche Gymnasium in Bergheim/Erft.

Nach mehreren Schulwechseln, die dem Tode meines Vaters 1958 folgten, bestand ich Anfang 1966 auf dem staatlichen Dreikönigsgymnasium in Köln. Zum Sommersemester 1966 schrieb ich mich in die naturwissenschaftliche Fakultät der Universität Köln ein.

Im Wintersemester 1967/68 wechselte ich nach München und begann das tierärztliche Studium, das ich am 28.9.1972 mit dem Staatsexamen beendete. Im November 1972 begann ich mit der Arbeit an der vorliegenden Dissertation, die ich im November 1973 abschloß.

